CAPÍTULO 14

# Princípios de Bioenergética

As células e os organismos precisam realizar trabalho para se manterem vivos, crescerem e reproduzirem. A habilidade para aproveitar a energia, direcionando-a na forma de trabalho biológico, é uma propriedade fundamental de todas as células e organismos vivos, aparentemente adquirida muito cedo no curso da evolução celular. Os organismos atuais executam uma notável variedade de processos de transformação de energia, convertendo uma forma de energia em outra. Eles utilizam a energia química contida nos combustíveis para sintetizar, a partir de precursores simples, moléculas complexas e altamente organizadas. Eles também convertem a energia química dos combustíveis em gradientes de concentração e elétrico, em movimento e calor e, em alguns organismos tais como o vaga-lume e peixes do fundo do mar, em luz. Os organismos fotossintéticos transformam a energia luminosa em todas essas outras formas de energia.

Os mecanismos químicos envolvidos nos processos de transformação da energia biológica por séculos têm fascinado e desafiado os biologistas. Antoine Lavoisier, decapitado durante a Revolução Francesa, reconheceu que de alguma forma os animais transformam combustíveis químicos (alimentos) em calor e que esse processo de respiração é essencial para a vida. Ele relatou o seguinte:

> "... em geral, a respiração nada mais é do que uma combustão lenta de carbono e hidrogênio, semelhante à que ocorre em uma lâmpada ou vela acesa, e assim, sob este ponto de vista, os animais que respiram são verdadeiros corpos combustíveis que queimam e consomem a si próprios. . . Alguém poderia dizer que esta analogia entre combustão e respiração não passou despercebida aos poetas, ou melhor, aos filósofos da Antiguidade, já tendo sido por eles relatada e interpretada: Este fogo roubado dos céus, esta tocha de Prometeu, não representa apenas uma idéia poética e engenhosa, mas antes, ao menos para os animais que respiram, ela é uma representação fiel das operações da natureza. Portanto, em conformidade com os antigos, pode-se dizer que a tocha da vida inflama-se a si mesma no momento em que a criança respira pela primeira vez, não se extinguindo a não ser na morte"*.



Antoine Lavoisier (1743-1794)

*De uma publicação por Armand Seguin e Antoine Lavoisier, de 1789, citada em Lavoisier, A. (1862) *Oeuvres de Lavoisier*, Imprimerie Impériale, Paris.

No decorrer do século XX, estudos bioquímicos revelaram a maior parte da química associada àquela "tocha da vida". As transformações de energia biológica obedecem às mesmas leis físicas que determinam os demais processos naturais. É, portanto, essencial para um estudante de bioquímica entender essas leis e como elas se aplicam ao fluxo de energia na biosfera. Neste capítulo, serão inicialmente revistas as leis da termodinâmica, bem como as relações quantitativas entre energia livre, entalpia e entropia. Será então discutida a função especial do ATP nas trocas de energia biológica. Finalmente, será discutida a importância das reações de oxidação-redução nas células vivas, a energética das reações de transferência de elétrons, além dos transportadores de elétrons freqüentemente utilizados como co-fatores das enzimas que catalisam essas reações.

## Bioenergética e Termodinâmica

Bioenergética é o estudo quantitativo das transformações de energia que ocorrem nas células vivas, bem como da natureza e função dos processos químicos nelas envolvidos. Embora muitos dos princípios da termodinâmica tenham sido previamente apresentados, podendo assim já ser familiares, uma revisão dos aspectos quantitativos desses princípios será útil no presente contexto.

### As transformações biológicas de energia seguem as leis da termodinâmica

Diversas observações quantitativas de físicos e químicos sobre a interconversão das diferentes formas de energia conduziram, ainda no século XIX, à formulação das duas leis fundamentais da termodinâmica. A primeira lei é o princípio da conservação de energia: *para qualquer transformação física ou química, a quantidade total de energia no universo permanece constante; a energia pode mudar de forma ou ser transportada de uma região para outra; entretanto, ela não pode ser criada ou destruída.* A segunda lei da termodinâmica, que pode ser enunciada de diferentes formas, refere-se à tendência que o universo apresenta para uma desordem crescente: *em todos os processos naturais, a entropia do universo aumenta.*

Os organismos vivos consistem em conjuntos de moléculas cujo grau de organização é muito maior do que o dos componentes de seu meio ambiente, com os quais elas são formadas; eles produzem ordem e a mantêm, aparentemente ignorando a segunda lei da termodinâmica. Entretanto, além de os organismos vivos não violarem a segunda lei, eles operam em estrita concordância com ela. Para discutir a aplicação da segunda lei da termodinâmica aos sistemas biológicos, devem-se inicialmente definir esses sistemas e os meios em que eles se encontram. O sistema reagente é o conjunto de matéria que está sofrendo um processo físico ou químico particular, podendo ser um organismo, uma célula, ou ainda dois compostos reagentes. Juntos, o




"Agora, na *segunda* lei da termodinâmica..."

**Tabela 14-1 – Algumas constantes físicas e unidades utilizadas em termodinâmica**

| |
|---|
| Constante de Boltzmann, **k** = 1,381 × $10^{-23}$J/K |
| Número de Avogadro, $N$ = 6,022 × $10^{23}$$mol^{-1}$ |
| Constante de Faraday, $\mathcal{F}$ = 96,480J/V · mol |
| Constante dos gases, $R$ = 8,315J/mol · K (= 1,987cal/mol · K) |
| A unidade de $\Delta G$ e $\Delta H$ é J/mol (ou cal/mol) |
| A unidade de $\Delta S$ é J/mol · K (ou cal/mol · K) |
| 1 cal = 4,184J |
| A unidade de temperatura absoluta, $T$, é Kelvin, K |
| 25°C = 298K |
| A 25°C, $RT$ = 2,479kJ/mol (= 0,592kcal/mol) |

sistema reagente e o seu meio ambiente constituem o universo. Em laboratório, alguns processos físicos ou químicos podem ocorrer em sistemas fechados ou isolados, sem qualquer troca de matéria ou energia com o meio ambiente. As células e os organismos vivos, entretanto, constituem sistemas abertos, trocando tanto matéria quanto energia com o ambiente, com o qual jamais atingem o equilíbrio. Assim, a constante interação entre sistema e ambiente explica como os organismos podem criar ordem interna, ao mesmo tempo em que operam de acordo com a segunda lei da termodinâmica.

No início deste texto foram definidos três parâmetros termodinâmicos que descrevem as transformações de energia que ocorrem durante uma reação química. A energia livre de Gibbs ($G$) expressa a quantidade de energia capaz de realizar trabalho durante uma reação a uma temperatura e pressão constantes (pág. 8). Quando uma reação ocorre com liberação de energia livre, ou seja, quando o sistema se transforma de modo a possuir menos energia livre, a variação de energia livre, $\Delta G$, apresenta valor negativo, sendo a reação denominada exergônica. Nas reações endergônicas, o sistema ganha energia livre, sendo o valor de $\Delta G$ positivo. A entalpia, $H$, é o conteúdo de calor do sistema reagente. Ela reflete o número e os tipos de ligações químicas nos reagentes e produtos. Quando uma reação química libera calor, ela é denominada exotérmica: o conteúdo de calor dos produtos é menor do que o dos reagentes e $\Delta H$ possui, por convenção, um valor negativo. Sistemas reagentes que captam calor de seus ambientes possuem valores de $\Delta H$ positivos, sendo denominados endotérmicos (pág. 50). A entropia, $S$, é uma expressão quantitativa da casualidade ou desordem de um sistema (Adendo 14-1). Quando os produtos de uma reação são menos complexos e mais desordenados do que os reagentes, a reação ocorre com um ganho em entropia (pág. 56). As unidades de $\Delta G$ e $\Delta H$ são joules/mol ou calorias/mol (lembre-se de que uma caloria equivale a 4,184J); a unidade de entropia é joules/mol · grau Kelvin (J/mol · K) (Tabela 14-1).

Sob as condições existentes nos sistemas biológicos, incluindo temperatura e pressão constantes, as mudanças na energia livre, entalpia e entropia, estão quantitativamente relacionadas entre si pela equação:

$$\Delta G = \Delta H - T\,\Delta S \qquad (14\text{-}1)$$

na qual $\Delta G$ é a variação na energia livre de Gibbs do sistema reagente, $\Delta H$ é a variação na entalpia do sistema, $T$ é a temperatura absoluta e $\Delta S$ é a variação na entropia do sistema. Por convenção, $\Delta S$ possui sinal positivo quando a entropia aumenta, e $\Delta H$, conforme mencionado acima, possui sinal negativo quando é liberado calor do sistema para o ambiente. Quaisquer umas dessas condições, que são típicas de processos favoráveis, tendem a tornar o valor de $\Delta G$ negativo. De fato, o valor de $\Delta G$ para um sistema que reage espontaneamente é sempre negativo.

A segunda lei da termodinâmica refere-se ao aumento na entropia *do universo* durante todos os processos físicos e químicos, embora esse aumento não ocorra necessariamente *no próprio sistema reagente*. A ordem produzida dentro das células à medida que elas crescem e se dividem é mais do que compensada pela desordem que elas criam em seus ambientes no curso desses acontecimentos (Adendo 14-1, caso 2). Em resumo, os organismos vivos preservam a ordem interna pela captação de energia livre do ambiente nas formas de nutrientes ou luz solar, devolvendo a ele uma quantidade igual de energia nas formas de calor e entropia.

## As células necessitam de fontes de energia livre

As células são sistemas isotérmicos, ou seja, elas funcionam essencialmente em temperatura (e pressão) constante. O fluxo de calor não é uma fonte de energia para as células porque o calor é capaz de realizar trabalho somente quando ele passa para uma região ou objeto com temperatura mais baixa. A energia que as células podem, e devem, utilizar é a energia livre, expressa pela energia livre de Gibbs, função $G$, que permite predizer o sentido das reações químicas, a sua exata posição de equilíbrio e a quantidade de trabalho que elas podem teoricamente realizar em temperatura e pressão constantes. As células heterotróficas obtêm energia livre das moléculas nutrientes e as células fotossintéticas a obtêm da radiação solar absorvida. Ambos os tipos de células transformam essa energia livre em ATP e outros compostos ricos em energia, todos eles capazes de fornecer energia para a realização de trabalho biológico à temperatura constante.

## A variação de energia livre padrão está diretamente relacionada com a constante de equilíbrio

A composição de um sistema reagente (uma mistura de reagentes químicos e seus produtos) tende a variar até que o equilíbrio químico seja atingido. Nas concentrações de equilíbrio, a velocidade da reação no sentido dos produtos é exatamente igual à velocidade no sentido dos reagentes, não ocorrendo no sistema qualquer mudança adicional. As concentrações dos reagentes e produtos *no estado de equilíbrio* definem a constante de equilíbrio, $K_{eq}$ (pág. 74). Na reação geral: $a\text{A} + b\text{B} \rightleftharpoons c\text{C} + d\text{D}$, onde $a$, $b$, $c$, e $d$ correspondem ao número de moléculas de A, B, C e D que participam da reação, a constante de equilíbrio é dada por:

$$K_{eq} = \frac{[\text{C}]^c[\text{D}]^d}{[\text{A}]^a[\text{B}]^b} \qquad (14\text{-}2)$$

onde [A], [B], [C] e [D] correspondem às concentrações molares dos componentes da reação no ponto de equilíbrio.

## Adendo 14-1 Entropia: as vantagens de haver desorganização

O termo entropia, que literalmente significa "mudança interior", foi utilizado pela primeira vez em 1851 por Rudolf Clausius, um dos formuladores da segunda lei da termodinâmica. Uma definição quantitativa rigorosa de entropia envolve considerações estatísticas e de probabilidades. Entretanto, a sua natureza pode ser ilustrada qualitativamente por três exemplos simples, cada um deles demonstrando um aspecto da entropia. A entropia está associada aos conceitos *casualidade* e *desordem*, manifestados de diferentes formas.

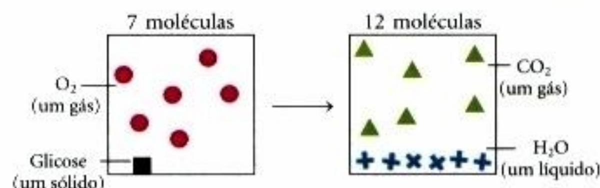
**Caso 1: O bule de chá e a distribuição casual do calor.** Sabe-se que o vapor gerado pela água fervente pode realizar trabalho útil. Mas suponhamos que a chama que aqueceu a 100°C a água contida em um bule de chá (o "sistema") existente em uma cozinha (o "ambiente") foi apagada e o bule começa a esfriar. Nenhum trabalho é realizado à medida que o bule e seu conteúdo esfriam, mas o calor passa deles para o "ambiente" (a cozinha), aumentando sua temperatura em um valor infinitesimalmente pequeno, até que o completo equilíbrio seja atingido. Nesse momento, todos os pontos do bule e da cozinha estarão precisamente com a mesma temperatura. A energia livre que estava concentrada no bule de água quente a 100°C, potencialmente capaz de realizar trabalho, desapareceu. Seu equivalente em energia calorífica ainda está presente no conjunto bule + cozinha, isto é, no "universo", porém com uma distribuição completamente ao acaso. Essa energia não é mais viável para a realização de trabalho, uma vez que não existe diferença de temperatura dentro da cozinha. Além disso, o aumento na entropia da cozinha (o "ambiente") é irreversível. Sabe-se pela experiência diária que o calor jamais voltaria espontaneamente da cozinha para o bule para aumentar novamente a temperatura da água a 100°C.

**Caso 2: A oxidação da glicose.** A entropia é um estado ou condição não apenas da energia, mas também da matéria. Os organismos aeróbicos (heterotróficos) extraem energia livre da glicose obtida do ambiente por meio de sua oxidação pelo oxigênio molecular, também obtido do ambiente. Os produtos finais desse metabolismo oxidativo, $CO_2$ e $H_2O$, são devolvidos ao ambiente. Nesse processo, o ambiente sofre aumento de entropia, enquanto o organismo permanece em estado estacionário, não sofrendo alterações em sua ordem interna. Embora uma parte da entropia tenha origem na dissipação de calor, a outra parte provém de um outro tipo de desordem, ilustrado pela equação para a oxidação da glicose:



$$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \longrightarrow 6CO_2 + 6H_2O$$

Isso pode ser representado esquematicamente como




Os átomos contidos em 1 molécula de glicose mais 6 moléculas de oxigênio, um total de 7 moléculas, são dispersos mais ao acaso devido à reação de oxidação, resultando em um total de 12 moléculas presentes ($6CO_2 + 6H_2O$).

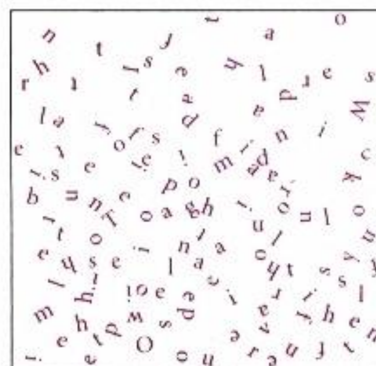
Sempre que uma reação química resulta no aumento do número de moléculas, ou ainda quando uma substância sólida é convertida em produtos líquidos ou gasosos, cujas moléculas apresentam maior liberdade de movimentação, a desordem molecular, e portanto a entropia, aumenta.

**Caso 3: Informação e entropia.** A pequena passagem descrita a seguir, extraída da peça *Julius Caesar*, Ato IV, Cena 3, é dita por Brutus antes de enfrentar o exército de Marco Antônio. São 125 letras do alfabeto inglês, que formam um arranjo não casual e rico em informação:

> "There is a tide in the affairs of men,
> Which, taken at the flood, leads on to fortune;
> Omitted, all the voyage of their life
> Is bound in shallows and in miseries."

Além do que estes versos expressam diretamente, existem muitos outros significados implícitos. Essa passagem reflete não apenas uma complexa seqüência de acontecimentos na peça, mas também faz eco às idéias nela discutidas, referentes a conflito, ambição e preço da liderança. Em associação com as idéias de Shakespeare sobre a natureza humana, ela é muito rica em informação.

Entretanto, se as 125 letras que compõem a citação fossem agrupadas em uma forma completamente casual e caótica, conforme mostrada a seguir, elas seriam desprovidas de qualquer significado.



Nesta distribuição, as 125 letras contêm pouca ou nenhuma informação, mas elas são muito ricas em entropia. Considerações desse tipo possibilitaram concluir que a informação é uma forma de energia, tendo sido denominada "entropia negativa". De fato, o ramo da matemática denominado teoria da informação, que é básico para a programação lógica de computadores, é fortemente relacionado à teoria termodinâmica. Os organismos vivos são estruturas altamente ordenadas, não casuais, imensamente ricas em informação e, portanto, pobres em entropia.

Quando um sistema reagente não se encontra no estado de equilíbrio, a tendência para um deslocamento em direção a ele corresponde a uma força impulsora, cuja intensidade pode ser expressa como a variação de energia livre para a reação, $\Delta G$. Sob condições-padrão (298K = 25°C), quando reagentes e produtos estão presentes inicialmente em concentrações iguais a 1M ou, para os gases, em pressões parciais iguais a 101,3 quilopascals (kPa) ou 1 atm, a força impulsora do sistema em direção ao equilíbrio é definida como a variação de energia livre padrão, $\Delta G^{\circ}$. Por essa definição, a condição-padrão para reações que envolvem íons hidrogênio é $[H^+]$ = 1M, o que corresponde a pH 0. Entretanto, a maioria das reações bioquímicas ocorre em soluções aquosas devidamente tamponadas em valores de pH próximos a 7; tanto o valor de pH quanto a concentração da água (55,5M) são essencialmente constantes. Para facilitar os cálculos, os bioquímicos definem um estado-padrão diferente, no qual a concentração de $H^+$ é $10^{-7}$M (pH 7) e a concentração da água é 55,5M; para reações que envolvem o $Mg^{2+}$, inclusive a maioria das reações nas quais o ATP é substrato, a sua concentração em solução é geralmente considerada constante em 1mM. As constantes físicas com fundamento nesse estado-padrão bioquímico são denominadas **constantes-padrão transformadas**, sendo representadas com a inclusão de um apóstrofe (por exemplo, $\Delta G'^{\circ}$ e $K'_{eq}$) para distingui-las das constantes não transformadas utilizadas por físicos e químicos. (Observe que o símbolo $\Delta G'^{\circ}$ substitui o símbolo $\Delta G^{\circ\prime}$ utilizado em edições anteriores deste livro e na maioria de outros livros-texto. A alteração, recomendada por um comitê internacional de químicos e bioquímicos, visa a ressaltar que a energia livre transformada, $G'$, é o critério para o equilíbrio.) Por convenção, quando $H_2O$, $H^+$ ou $Mg^{2+}$ estão presentes em um sistema como reagentes ou produtos, as suas concentrações não são incluídas em equações como a Equação 14-2, embora estejam incorporadas nas constantes $\Delta G'^{\circ}$ e $K'_{eq}$.

Assim como a $K'_{eq}$ é uma constante física característica para cada reação, $\Delta G'^{\circ}$ também é uma constante. Conforme foi mencionado no Capítulo 8 (Eq. 8-3, pág. 193), existe uma relação simples entre $K'_{eq}$ e $\Delta G'^{\circ}$:

$$\Delta G'^{\circ} = -RT \ \ln K'_{eq}$$

*A variação de energia livre padrão de uma reação química é simplesmente uma via matemática alternativa para expressar a sua constante de equilíbrio.* A Tabela 14-2 mostra a relação entre $\Delta G'^{\circ}$ e $K'_{eq}$. Se a constante de equilíbrio para uma determinada reação química ($K'_{eq}$) for igual a 1,0, a variação de energia livre padrão ($\Delta G'^{\circ}$) da reação será igual a 0,0 (o logaritmo natural de 1,0 é zero). Se a $K'_{eq}$ for maior que 1,0, $\Delta G'^{\circ}$ terá valor negativo. Se a $K'_{eq}$ for menor que 1,0, $\Delta G'^{\circ}$ terá valor positivo. Como a relação entre $\Delta G'^{\circ}$ e $K'_{eq}$ é exponencial, variações relativamente pequenas no valor de $\Delta G'^{\circ}$ correspondem a grandes variações na $K'_{eq}$.

**Tabela 14-2 – Relação entre constantes de equilíbrio e variações de energia livre padrão das reações químicas**

| $K'_{eq}$ | $\Delta G'^{\circ}$ (kJ/mol) | $\Delta G'^{\circ}$ (kcal/mol)* |
|---|---|---|
| $10^3$ | −17,1 | −4,1 |
| $10^2$ | −11,4 | −2,7 |
| $10^1$ | −5,7 | −1,4 |
| 1 | 0,0 | 0,0 |
| $10^{-1}$ | 5,7 | 1,4 |
| $10^{-2}$ | 11,4 | 2,7 |
| $10^{-3}$ | 17,1 | 4,1 |
| $10^{-4}$ | 22,8 | 5,5 |
| $10^{-5}$ | 28,5 | 6,8 |
| $10^{-6}$ | 34,2 | 8,2 |

*Embora joules e quilojoules sejam as unidades-padrão de energia utilizadas neste texto, os bioquímicos às vezes expressam valores de $\Delta G'^{\circ}$ em quilocalorias por mol. Portanto, foram incluídos nesta tabela valores tanto em quilojoules quanto em quilocalorias, assim como nas Tabelas 14-4 e 14-6. Para converter quilojoules em quilocalorias, basta dividir o valor em quilojoules por 4,184.

Uma interpretação alternativa para a variação de energia livre padrão é a de que, sob condições-padrão, $\Delta G'^{\circ}$ é a diferença entre o conteúdo de energia livre dos produtos e o conteúdo de energia livre dos reagentes. Quando o valor de $\Delta G'^{\circ}$ é negativo, os produtos possuem menos energia livre do que os reagentes e a reação ocorre espontaneamente sob condições-padrão; todas as reações químicas tendem a ocorrer no sentido que resulta em diminuição da energia livre do sistema. Um valor positivo de $\Delta G'^{\circ}$ significa que os produtos da reação possuem mais energia livre do que os reagentes; nesse caso, a reação tenderá a ocorrer no sentido reverso, caso seja iniciada com todos os componentes presentes em concentrações 1,0M (condições-padrão). A Tabela 14-3 resume esses aspectos.

**Tabela 14-3 – Relação entre os valores de $K'_{eq}$ e $\Delta G'^{\circ}$ e o sentido das reações químicas sob condições-padrão**

| Quando $K'_{eq}$ é | $\Delta G'^{\circ}$ é | Iniciando com componentes 1M a reação |
|---|---|---|
| > 1,0 | Negativa | Ocorre de forma direta |
| 1,0 | Zero | Está em equilíbrio |
| < 1,0 | Positiva | Ocorre de forma inversa |

Como exemplo, será apresentado um cálculo simples da variação de energia livre padrão para a reação catalisada pela fosfoglicomutase:


Glicose-1-fosfato ⇌ glicose-6-fosfato

A análise química mostra que se a reação for iniciada com 20mM de glicose-1-fosfato (na ausência de glicose-6-fosfato) ou com 20mM de glicose-6-fosfato (na ausência de glicose-1-fosfato), a 25°C e pH 7,0, no equilíbrio final estarão presentes 1mM de glicose-1-fosfato e 19mM de glicose-6-fosfato. (Lembre-se de que as enzimas não interferem no ponto de equilíbrio de uma reação; elas simplesmente aceleram a velocidade com que ele é atingido.) Dos dados apresentados, pode-se calcular a constante de equilíbrio:

$$K'_{eq} = \frac{[\text{glicose-6-fosfato}]}{[\text{glicose-1-fosfato}]} = \frac{19\text{mM}}{1\text{mM}} = 19$$

A partir deste valor da $K'_{eq}$, pode-se calcular a variação de energia livre padrão:

$$\begin{aligned}\Delta G'^{\circ} &= -RT \ \ln K'_{eq} \\ &= -(8{,}315\text{J/mol}\cdot\text{K})(298\text{K})(\ln 19) \\ &= -7{,}296\text{J/mol} = -7{,}3\text{kJ/mol}\end{aligned}$$

Como a variação de energia livre padrão é negativa, quando a reação é iniciada com glicose-1-fosfato e glicose-6-fosfato, ambos os compostos em concentração 1,0M, a conversão do primeiro no segundo dá-se com perda (liberação) de energia livre. Para a reação reversa (a conversão de glicose-6-fosfato em glicose-1-fosfato), $\Delta G'^{\circ}$ apresenta valor equivalente, porém com sinal oposto.

A Tabela 14-4 apresenta as variações de energia livre padrão para algumas reações químicas representativas. Observar que a hidrólise de ésteres simples, amidas, peptídeos e glicosídeos, bem como reações envolvendo rearranjos e eliminações, ocorrem com variações relativamente pequenas na energia livre padrão, enquanto a hidrólise de anidridos de ácidos ocorre com diminuições relativamente elevadas. A oxidação completa de compostos orgânicos tais como glicose e palmitato a $CO_2$ e $H_2O$, rea-

**Tabela 14-4 – Variações da energia livre padrão de algumas reações químicas em pH 7,0, a 25°C (298K)**

| Tipo de reação | $\Delta G'^{\circ}$ (kJ/mol) | $\Delta G'^{\circ}$ (kcal/mol) |
|---|---|---|
| **Reações de hidrólise** | | |
| Anidridos de ácidos | | |
| Anidrido acético + $H_2O \longrightarrow$ 2 acetato | –91,1 | –21,8 |
| ATP + $H_2O \longrightarrow$ ADP + $P_i$ | –30,5 | –7,3 |
| ATP + $H_2O \longrightarrow$ AMP + $PP_i$ | –45,6 | –10,9 |
| $PP_i$ + $H_2O \longrightarrow 2P_i$ | –19,2 | –4,6 |
| UDP-glicose + $H_2O \longrightarrow$ UMP + glicose-1-fosfato | –43,0 | –10,3 |
| Ésteres | | |
| Acetato de etila + $H_2O \longrightarrow$ etanol + acetato | –19,6 | –4,7 |
| Glicose-6-fosfato + $H_2O \longrightarrow$ glicose + $P_i$ | –13,8 | –3,3 |
| Amidas e peptídeos | | |
| Glutamina + $H_2O \longrightarrow$ glutamato + $NH_4^+$ | –14,2 | –3,4 |
| Glicilglicina + $H_2O \longrightarrow$ 2 glicina | –9,2 | –2,2 |
| Glicosídeos | | |
| Maltose + $H_2O \longrightarrow$ 2 glicose | –15,5 | –3,7 |
| Lactose + $H_2O \longrightarrow$ glicose + galactose | –15,9 | –3,8 |
| **Rearranjos** | | |
| Glicose-1-fosfato $\longrightarrow$ glicose-6-fosfato | –7,3 | –1,7 |
| Frutose-6-fosfato $\longrightarrow$ glicose-6-fosfato | –1,7 | –0,4 |
| **Eliminação de água** | | |
| Malato $\longrightarrow$ fumarato + $H_2O$ | 3,1 | 0,8 |
| **Oxidações com oxigênio molecular** | | |
| Glicose + $6O_2 \longrightarrow 6CO_2 + 6H_2O$ | –2.840 | –686 |
| Palmitato + $23O_2 \longrightarrow 16CO_2 + 16H_2O$ | –9.770 | –2.338 |

ções que nas células incluem várias etapas, resulta em uma grande diminuição na energia livre padrão. As variações na energia livre padrão tais como as apresentadas na Tabela 14-4 indicam a quantidade de energia livre disponível para uma determinada reação, sob *condições-padrão*. Para as condições existentes nas células, entretanto, a expressão pertinente é a variação de energia livre *real*.

## A variação de energia livre *real* depende das concentrações de reagentes e produtos

Variação de energia livre, $\Delta G$, e variação de energia livre padrão, $\Delta G'^{\circ}$, são expressões distintas. Cada reação química apresenta uma variação de energia livre padrão característica, que pode ser positiva, negativa, ou igual a zero, dependendo da constante de equilíbrio da reação. A variação de energia livre padrão indica o sentido de uma reação, bem como a distância em que ela se encontra do estado de equilíbrio *quando a concentração inicial de cada componente é 1,0M*, o pH 7,0, a temperatura 25°C e a pressão 101,3kPa (1 atm). Assim, $\Delta G'^{\circ}$ é uma constante, uma vez que o seu valor para uma determinada reação é característico e invariável. Entretanto, a variação de energia livre *real*, $\Delta G$, depende das concentrações dos reagentes e produtos, além da temperatura, valores que não correspondem necessariamente aos das condições-padrão descritas anteriormente. Além disso, o valor de $\Delta G$ para qualquer reação que ocorre espontaneamente no sentido do equilíbrio é sempre negativo, torna-se menos negativo à medida que a reação evolui, atingindo o valor zero no ponto de equilíbrio, a partir do qual a reação não mais realiza trabalho.

Os valores de $\Delta G$ e $\Delta G'^{\circ}$ para uma determinada reação A + B $\rightleftharpoons$ C + D, são relacionados pela equação

$$\Delta G = \Delta G'^{\circ} + RT \ \ln \frac{[C][D]}{[A][B]} \qquad (14\text{-}3)$$

na qual os termos em vermelho são aqueles *realmente prevalecentes* no sistema em observação. Os termos de concentração nesta equação expressam o efeito geralmente denominado ação das massas. Por exemplo, suponhamos que a reação A + B $\rightleftharpoons$ C + D está se processando sob condições-padrão de temperatura (25°C) e pressão (101,3kPa), mas que as concentrações de A, B, C e D *não* são iguais entre si e também não correspondem ao valor-padrão de 1,0M. Para determinar a variação real de energia livre, $\Delta G$, sob essa condição não-padrão de concentração, à medida que a reação evolui da esquerda para a direita, basta introduzir as concentrações *reais* de A, B, C e D na Equação 14-3; os valores de $R$, $T$ e $\Delta G'^{\circ}$ são conhecidos. O valor de $\Delta G$ é negativo e aproxima-se de zero à medida que a reação evolui, uma vez que as concentrações *reais* de A e B diminuem enquanto as concentrações de C e D aumentam. Pode-se observar que quando a reação está no estado de equilíbrio, ou seja,

quando não existe qualquer força impulsionando a reação em qualquer um dos sentidos e $\Delta G$ é igual a zero, a Equação 14-3 reduz-se a:

$$0 = \Delta G'^{\circ} = RT \ \ln \frac{[C]_{eq}[D]_{eq}}{[A]_{eq}[B]_{eq}}$$

ou

$$\Delta G'^{\circ} = -RT \ \ln K'_{eq}$$

a equação que, conforme mencionado anteriormente, relaciona variação de energia livre padrão e constante de equilíbrio.

O critério para avaliar a espontaneidade de uma reação é utilizar o valor de $\Delta G$, não o de $\Delta G'^{\circ}$. Uma reação com valor de $\Delta G'^{\circ}$ positivo pode ocorrer no sentido direto *caso* $\Delta G$ *tenha valor negativo*. Isso é possível quando o termo $RT$ ln ([produtos]/[reagentes]) na Equação 14-3 é negativo e apresenta um valor absoluto muito maior do que o de $\Delta G'^{\circ}$. Por exemplo, a remoção imediata dos produtos de uma reação pode manter a razão [produtos]/[reagentes] muito abaixo de 1, de tal forma que o termo $RT$ ln ([produtos]/[reagentes]) apresente um valor bastante negativo.

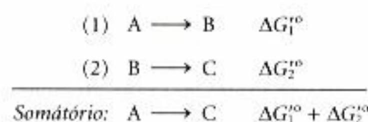
$\Delta G'^{\circ}$ e $\Delta G$ são expressões da quantidade *máxima* de energia livre que uma determinada reação pode *teoricamente* liberar, ou seja, uma quantidade de energia utilizável apenas mediante a presença de um dispositivo perfeitamente eficiente em captá-la ou armazená-la. Já que tal dispositivo não é factível (alguma quantidade de energia livre é sempre perdida como entropia durante qualquer processo), a quantidade de trabalho realizado por uma reação para temperatura e pressão constantes é sempre menor do que a quantidade teoricamente disponível.

Uma outra questão importante é que algumas reações termodinamicamente favoráveis, isto é, reações para as quais os valores de $\Delta G'^{\circ}$ são altos e negativos não ocorrem em velocidades mensuráveis. Por exemplo, a combustão da lenha a $CO_2$ e $H_2O$ é um processo altamente favorável termodinamicamente. Entretanto, a lenha mantém-se estável por anos, uma vez que a energia de ativação (veja Fig. 8-3) para a reação de combustão é maior do que a energia disponível à temperatura ambiente. Caso a energia de ativação necessária seja fornecida (por um fósforo aceso, por exemplo), a combustão terá início, convertendo a madeira nos produtos mais estáveis $CO_2$ e $H_2O$ e liberando energia nas formas de calor e luz. O calor liberado por essa reação exotérmica fornece a energia de ativação necessária para combustão de regiões vizinhas à lenha, autoperpetuando esse processo.

Nas células vivas, as reações seriam extremamente lentas caso *não fossem catalisadas*. Entretanto, elas o são, não por suprimento de calor adicional, mas por diminuição da energia de ativação por meio da ação de enzimas. As enzimas fornecem uma via de reação alternativa com uma energia de ativação menor do que a da reação não-catalisada, de tal forma que, à temperatura ambiente, uma grande fração das moléculas de substrato adquire energia térmica suficiente para sobrepujar a barreira de ativação, aumentando drasticamente a velocidade de reação. *A variação de energia livre para uma reação é independente da via pela qual ela ocorre*; ela depende apenas da natureza e das concentrações dos reagentes iniciais e dos produtos finais. As enzimas, portanto, não alteram as constantes de equilíbrio; o que elas fazem é aumentar a *velocidade* pela qual a reação ocorre no sentido determinado pela termodinâmica.

## As variações de energia livre padrão são aditivas

No caso de duas reações químicas em seqüência, $A \rightleftharpoons B$ e $B \rightleftharpoons C$, cada uma delas possui a sua própria constante de equilíbrio e a sua variação de energia livre padrão característica, $\Delta G_1'^{\circ}$ e $\Delta G_2'^{\circ}$. Como as duas reações são seqüenciais, o termo B é cancelado, resultando na reação total $A \rightleftharpoons C$, que possui a sua própria constante de equilíbrio e, portanto, a sua própria variação



$$\begin{array}{llll} (1) & A \longrightarrow B & & \Delta G_1'^{\circ} \\ (2) & B \longrightarrow C & & \Delta G_2'^{\circ} \\ \hline \textit{Somatório:} & A \longrightarrow C & & \Delta G_1'^{\circ} + \Delta G_2'^{\circ} \end{array}$$

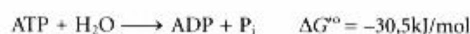
de energia livre padrão, $\Delta G'^{\circ}_{total}$. *Os valores de* $\Delta G'^{\circ}$ *para reações químicas seqüenciais são aditivos*. Para a reação total $A \rightleftharpoons C$, $\Delta G'^{\circ}_{total}$ é a soma algébrica das variações de energia livre padrão individuais, $\Delta G_1'^{\circ}$ e $\Delta G_2'^{\circ}$, das duas reações separadas: $\Delta G'^{\circ}_{total} = \Delta G_1'^{\circ}$ e $\Delta G_2'^{\circ}$. Esse princípio da bioenergética explica como uma reação termodinamicamente desfavorável (endergônica) em um determinado sentido pode ocorrer nesse mesmo sentido pelo acoplamento, por meio de um intermediário comum, com uma reação altamente exergônica.

Por exemplo, a síntese de glicose-6-fosfato é a primeira etapa na utilização da glicose por muitos organismos:



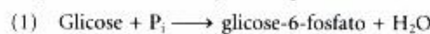
$$\text{Glicose} + P_i \longrightarrow \text{glicose-6-fosfato} + H_2O \qquad \Delta G'^{\circ} = 13{,}8\text{kJ/mol}$$

O valor positivo de $\Delta G'^{\circ}$ indica que sob condições-padrão a reação não tenderá a ocorrer espontaneamente no sentido em que está representada. Uma outra reação celular, a hidrólise do ATP a ADP e $P_i$, é altamente exergônica:

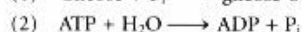


$$\text{ATP} + H_2O \longrightarrow \text{ADP} + P_i \qquad \Delta G'^{\circ} = -30{,}5\text{kJ/mol}$$

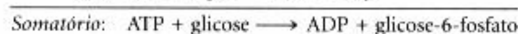
Estas duas reações compartilham os intermediários $P_i$ e $H_2O$, podendo ser expressas como reações seqüenciais:



$$(1) \quad \text{Glicose} + P_i \longrightarrow \text{glicose-6-fosfato} + H_2O$$



$$(2) \quad \text{ATP} + H_2O \longrightarrow \text{ADP} + P_i$$



$$\textit{Somatório:} \quad \text{ATP} + \text{glicose} \longrightarrow \text{ADP} + \text{glicose-6-fosfato}$$

A variação de energia livre padrão total é obtida pelo somatório dos valores de $\Delta G'^{\circ}$ para as reações individuais:

$$\Delta G'^{\circ} = 13{,}8\text{kJ/mol} + (-30{,}5\text{kJ/mol}) = -16{,}7\text{kJ/mol}$$

A reação total é exergônica. Neste caso, a energia armazenada nas ligações do ATP é utilizada para promover a síntese de glicose-6-fosfato, ainda que a sua formação a partir de glicose e fosfato seja endergônica. A *via de formação* de glicose-6-fosfato por transferência do fosfato do ATP é diferente das reações (1) e (2) apresentadas acima, embora o resultado final seja equivalente ao obtido pelo somatório das duas reações. Para efeito de cálculos termodinâmicos, o que importa é o estado do sistema no início e no final do processo, sendo irrelevante o caminho entre os estados inicial e final.

Como foi mencionado, $\Delta G'^{\circ}$ é uma forma de expressar a constante de equilíbrio de uma reação. Assim, para a reação (1) apresentada acima,

$$K'_{eq_1} = \frac{[\text{glicose-6-fosfato}]}{[\text{glicose}][P_i]} = 3{,}9 \times 10^{-3}\text{M}^{-1}$$

Observe que a $H_2O$ não está incluída nesta expressão. A constante de equilíbrio para a hidrólise do ATP é

$$K'_{eq_2} = \frac{[\text{ADP}][P_i]}{[\text{ATP}]} = 2 \times 10^5\text{M}$$

Portanto, a constante de equilíbrio para as duas reações acopladas é:

$$\begin{aligned} K'_{eq_3} &= \frac{[\text{glicose-6-fosfato}][\text{ADP}][P_i]}{[\text{glicose}]\ [P_i]\ [\text{ATP}]} \\ &= (K'_{eq_1})(K'_{eq_2}) = (3{,}9 \times 10^{-3}\text{M}^{-1})(2{,}0 \times 10^5\text{M}) \\ &= 7{,}8 \times 10^2 \end{aligned}$$

Este cálculo ilustra uma importante questão com relação às constantes de equilíbrio: embora os valores de $\Delta G'^{\circ}$ para duas rea-

ções cujo somatório resulte em uma terceira sejam *aditivos*, a $K'_{eq}$ para uma reação resultante do somatório de duas outras corresponde ao *produto* dos seus valores de $K'_{eq}$ individuais, ou seja, as constantes de equilíbrio são *multiplicativas*. Assim, a $K'_{eq}$ para formação de glicose-6-fosfato envolvendo acoplamento com a hidrólise do ATP é elevada por um fator de aproximadamente $2 \times 10^5$.

Essa estratégia envolvendo intermediários comuns é utilizada por todas as células vivas na síntese de intermediários metabólicos e componentes celulares, sendo requisito para o seu funcionamento a contínua disponibilidade de compostos como o ATP. Nos capítulos a seguir, serão consideradas algumas das mais importantes vias celulares de produção de ATP.

## Transferência de Grupo Fosforil e ATP

Uma vez conhecidos alguns dos princípios fundamentais das transformações de energia nos sistemas químicos, pode-se agora analisar o ciclo de energia nas células, bem como a função especial do ATP na ligação entre processos catabólicos e anabólicos (veja Fig. 1-14). As células heterotróficas obtêm energia livre, de natureza química, por meio do catabolismo de moléculas nutrientes, utilizando-a para sintetizar ATP a partir de ADP e $P_i$. O ATP, por sua vez, transfere parte de sua energia química para processos endergônicos, tais como síntese de intermediários metabólicos e macromoléculas a partir de precursores menores, transporte de substâncias contra gradientes de concentração por meio de membranas e movimento mecânico. Essa transferência de energia do ATP geralmente envolve a participação de ligação covalente do ATP na reação a ser processada, com a sua conseqüente conversão em ADP e $P_i$, ou, em algumas reações, em AMP e 2 $P_i$. Serão discutidas, a seguir, as bases químicas para as grandes variações de energia livre que acompanham a hidrólise do ATP e de outros compostos com grupos fosfato de alta energia. Além disso, será examinado o fato de que a maior parte dos casos de transferência de energia do ATP envolve a transferência de grupo, não simplesmente a sua hidrólise. A série de transformações de energia nas quais o ATP participa será ilustrada pela síntese de macromoléculas informacionais, pelo transporte de solutos através de membranas e pelo movimento produzido durante a contração muscular.

### A variação de energia livre para a hidrólise do ATP é grande e negativa

A Figura 14-1 apresenta um resumo das bases químicas que justificam o valor negativo e relativamente alto da variação de energia livre padrão para a hidrólise do ATP. O rompimento hidrolítico do anidrido de ácido fosfórico terminal (fosfoanidrido) do ATP separa um dos três grupos fosfato carregados negativamente, aliviando parte da repulsão eletrostática na molécula; o $P_i$ ($HPO_4^{2-}$) liberado pela hidrólise é estabilizado devido à formação de várias formas de ressonância, não possíveis na molécula de ATP; $ADP^{2-}$, o outro produto direto da hidrólise do ATP, ioniza-se imediatamente, liberando $H^+$ em um meio que apresenta $[H^+]$ muito baixa ($\sim 10^{-7}$M). Por serem as concentrações dos produtos diretos da hidrólise do ATP muito inferiores às concentrações no estado de equilíbrio, a ação das massas favorece a reação de hidrólise.

Embora a reação de hidrólise do ATP seja altamente exergônica ($\Delta G'^{\circ} = -30{,}5$kJ/mol), a molécula é cineticamente estável em pH 7,0, uma vez que a energia de ativação para a hidrólise do ATP é relativamente alta. Assim, o rompimento rápido das ligações fosfoanidrido dá-se apenas mediante catálise enzimática.

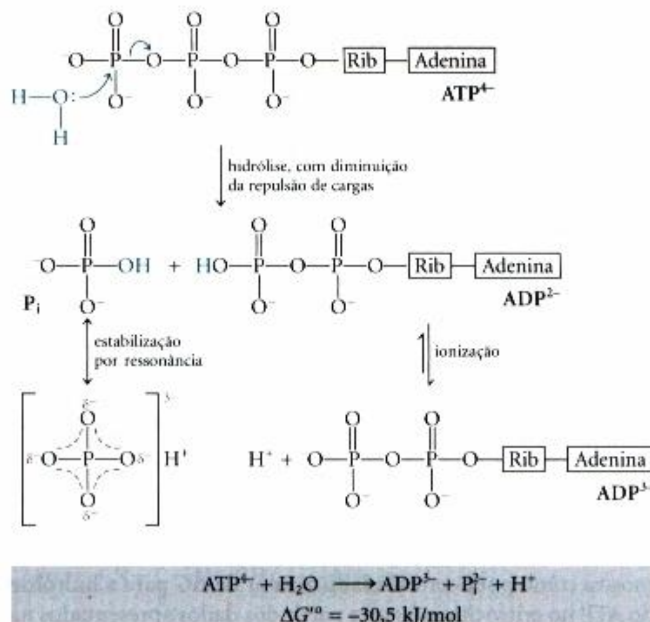



**Figura 14-1 – Bases químicas para a grande variação de energia livre associada à hidrólise do ATP.** Primeiro, a hidrólise, por causar separação de carga, alivia a repulsão eletrostática entre as quatro cargas negativas do ATP. Segundo, o fosfato inorgânico (P) liberado pela hidrólise é estabilizado pela formação de um híbrido de ressonância, no qual cada uma das quatro ligações P—O apresenta o mesmo grau de caráter de dupla ligação e os íons hidrogênio não se encontram permanentemente associados a qualquer um dos átomos de oxigênio. Certo grau de estabilização por ressonância também ocorre nos fosfatos envolvidos nas ligações éster ou anidrido, mas em menor quantidade do que no $P_i$. Terceiro, $ADP^{2-}$ produzido pela hidrólise ioniza-se imediatamente, liberando um próton em um meio de $[H^+]$ muito baixa (pH 7,0). Um quarto fator (não apresentado nesta figura) que favorece a hidrólise do ATP é o maior grau de solvatação (hidratação) dos produtos $P_i$ e ADP em relação ao ATP, o que proporciona uma estabilização adicional dos produtos em relação aos reagentes.

A variação de energia livre padrão para a hidrólise do ATP é −30,5kJ/mol sob condições-padrão, embora a energia livre *real* de hidrólise ($\Delta G$) do ATP no interior das células vivas seja muito diferente. Isso porque as concentrações celulares de ATP, ADP e $P_i$ não são idênticas entre si, além de serem muito inferiores às concentrações-padrão de 1,0M (Tabela 14-5). Além disso, no citosol, o $Mg^{2+}$ liga-se ao ATP e ADP (Fig. 14-2), sendo que para a maioria das reações enzimáticas que envolvem o ATP como doador de um grupo fosforil o verdadeiro substrato é o comple-

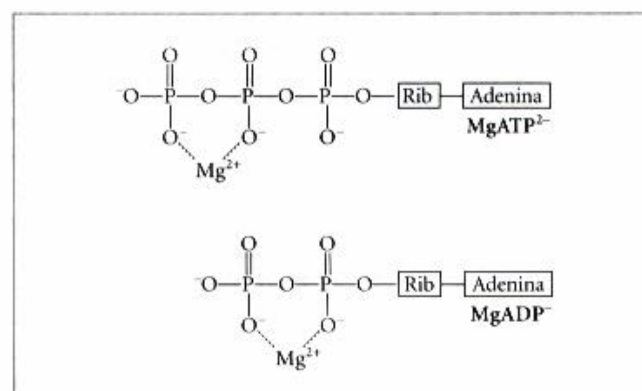



**Figura 14-2 – $Mg^{2+}$ e ATP.** A formação de complexos de $Mg^{2+}$ isola parcialmente as cargas negativas, influenciando a conformação dos grupos fosfato em nucleotídeos tais como ATP e ADP.

**Tabela 14-5 – Concentrações de nucleotídeos de adenina, fosfato inorgânico e fosfocreatina encontradas em diferentes células***

| | Concentração (mM) | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | ATP | ADP† | AMP | $P_i$ | PCr |
| Hepatócito de rato | 3,38 | 1,32 | 0,29 | 4,8 | 0 |
| Miócito de rato | 8,05 | 0,93 | 0,04 | 8,05 | 28 |
| Neurônio de rato | 2,59 | 0,73 | 0,06 | 2,72 | 4,7 |
| Eritrócito humano | 2,25 | 0,25 | 0,02 | 1,65 | 0 |
| Célula da *E. coli* | 7,90 | 1,04 | 0,82 | 7,9 | 0 |

*Para os eritrócitos, as concentrações correspondem às encontradas no citosol (os eritrócitos humanos não possuem núcleo ou mitocôndrias). Para os demais tipos de células, os dados são referentes a todo o conteúdo celular, embora o citosol e as mitocôndrias apresentem concentrações de ADP muito diferentes. A fosfocreatina (PCr) é discutida na página 391.

†Estes valores refletem a concentração total; os valores verdadeiros para ADP livre podem ser muito menores (veja Adendo 14-2).

xo $MgATP^{2-}$ e o verdadeiro valor de $\Delta G'^{\circ}$, portanto, é o valor correspondente ao da hidrólise do complexo. O Adendo 14-2 mostra como pode ser calculado o valor de $\Delta G$ para a hidrólise do ATP no eritrócito intacto, a partir dos dados apresentados na Tabela 14-5. $\Delta G$ para a hidrólise do ATP nas células intactas, geralmente denominado $\Delta G_p$, é muito mais negativo do que $\Delta G'^{\circ}$, variando de –50 a –65kJ/mol; $\Delta G_p$ é freqüentemente denominado do **potencial de fosforilação**. Entretanto, nas discussões a seguir será utilizada a variação de energia livre padrão para a hidrólise do ATP, uma vez que esse parâmetro permite comparações, nas mesmas bases, com a energética de outras reações celulares. Deve-se considerar, entretanto, que nas células vivas, tanto para a hidrólise do ATP quanto para as demais reações, o valor pertinente é o de $\Delta G$, o qual pode ser substancialmente diferente do valor de $\Delta G'^{\circ}$.

## Outros compostos fosforilados e tioésteres também apresentam altos valores de energia livre de hidrólise

O fosfoenolpiruvato (Fig. 14-3) contém uma ligação éster fosfato capaz de sofrer hidrólise produzindo a forma enólica do piruvato, que sofre imediata tautomerização para a forma cetônica, mais estável. Como o reagente (fosfoenolpiruvato) apresenta uma única forma (enol) e o produto (piruvato) apresenta duas formas possíveis, o produto é mais estável do que o reagente. Esse é o fator que mais contribui para a alta energia livre padrão de hidrólise do fosfoenolpiruvato: $\Delta G'^{\circ} = -61{,}9$kJ/mol.

Um outro composto com três carbonos, o 1,3-difosfoglicerato (Fig. 14-4), possui uma ligação anidrido entre o grupo carboxila no C-1 e o ácido fosfórico. A hidrólise desse acilfosfato é acompanhada por uma variação de energia livre padrão alta e

## Adendo 14-2 A energia livre de hidrólise do ATP no interior das células: O verdadeiro custo dos negócios metabólicos

A energia livre padrão de hidrólise do ATP é –30,5kJ/mol. Entretanto, as concentrações celulares de ATP, ADP e $P_i$ não somente são diferentes entre si, mas também muito inferiores às concentrações-padrão 1M (veja Tabela 14-5). Além disso, o pH celular pode ser ligeiramente diferente do pH padrão 7,0. Assim, a energia livre *real* de hidrólise do ATP nas condições intracelulares, $\Delta G_p$, difere da variação de energia livre padrão, $\Delta G'^{\circ}$. O valor de $\Delta G_p$ pode ser facilmente calculado. Por exemplo, nos eritrócitos humanos, as concentrações de ATP, ADP e $P_i$ são 2,25, 0,25 e 1,65mM, respectivamente. Para simplificar, pode-se assumir que o pH é 7,0 e a temperatura é 25°C (valores-padrão). O valor real para a energia livre de hidrólise do ATP no eritrócito, sob essas condições, é dado pela seguinte relação

$$\Delta G_p = \Delta G'^{\circ} + RT \ln \frac{[\text{ADP}][\text{P}_i]}{[\text{ATP}]}$$

Substituindo os valores apropriados, obtém-se:

$$\begin{aligned}\Delta G_p &= -30.500\text{J/mol} + (8{,}315\text{J/mol} \cdot \text{K})(298\text{K}) \\ &\quad \times \ln \frac{(2{,}50 \times 10^{-4})(1{,}65 \times 10^{-3})}{2{,}25 \times 10^{-3}} \\ &= -30.500\text{J/mol} + (2.480\text{J/mol}) \ln (1{,}83 \times 10^{-4}) \\ &= -30.500\text{J/mol} - 21.300\text{J/mol} \\ &= -51.800\text{J/mol} \\ &= -51{,}8\text{kJ/mol}\end{aligned}$$

Assim, $\Delta G_p$, a variação de energia livre real para a hidrólise do ATP no eritrócito intacto (–51,8kJ/mol) é muito superior à variação de energia livre padrão (–30,5kJ/mol). Da mesma forma, a energia livre necessária para *sintetizar* ATP a partir de ADP e $P_i$, sob as condições que prevalecem no eritrócito, seria 51,8kJ/mol.

Como as concentrações de ATP, ADP e $P_i$ diferem de um tipo de célula para outro (veja Tabela 14-5), os valores de $\Delta G_p$ para a hidrólise do ATP nas diferentes células também são diferentes. Além disso, em uma célula específica, o valor de $\Delta G_p$ pode variar com o tempo, dependendo das condições metabólicas da célula e de como elas interferem nas concentrações de ATP, ADP e $P_i$, além de $H^+$ (pH). Pode-se calcular a variação real de energia livre padrão para uma determinada reação metabólica nas condições em que ela ocorre na célula, desde que sejam conhecidas as concentrações de todos os reagentes e produtos da reação, além de outros fatores, tais como pH, temperatura e concentração de $Mg^{2+}$, que podem afetar $\Delta G'^{\circ}$ e, portanto, a variação de energia livre calculada, $\Delta G_p$.

Uma complicação adicional é que as concentrações totais de ATP, ADP, $P_i$ e $H^+$ podem ser substancialmente maiores do que as concentrações livres, as quais constituem os valores termodinamicamente relevantes. A diferença deve-se às fortes ligações de ATP, ADP e $P_i$ a proteínas celulares. Por exemplo, a concentração de ADP livre no músculo em repouso varia de 1 a 37μM. Usando-se o valor 25μM no cálculo descrito anteriormente, obtém-se $\Delta G_p$ igual a –57,5kJ/mol. O valor exato de $\Delta G_p$ é, certamente, menos instrutivo do que a generalização que pode ser feita sobre a variação de energia livre real: *in vivo*, a energia liberada pela hidrólise do ATP é maior do que a variação de energia livre padrão, $\Delta G'^{\circ}$.

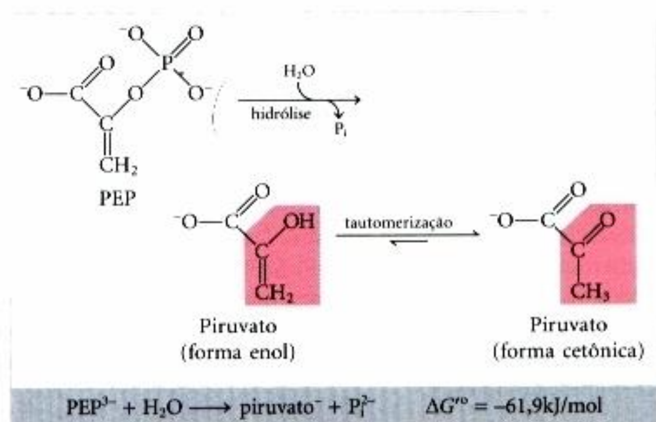



**Figura 14-3 – Hidrólise do fosfoenolpiruvato (PEP)**. Catalisada pela piruvato quinase, esta reação é seguida por tautomerização espontânea do produto, o piruvato. A tautomerização não é possível no PEP e, assim, os produtos das hidrólises são mais estáveis do que os reagentes. Também ocorre estabilização do $P_i$ por ressonância, conforme mostrado na Figura 14-1.

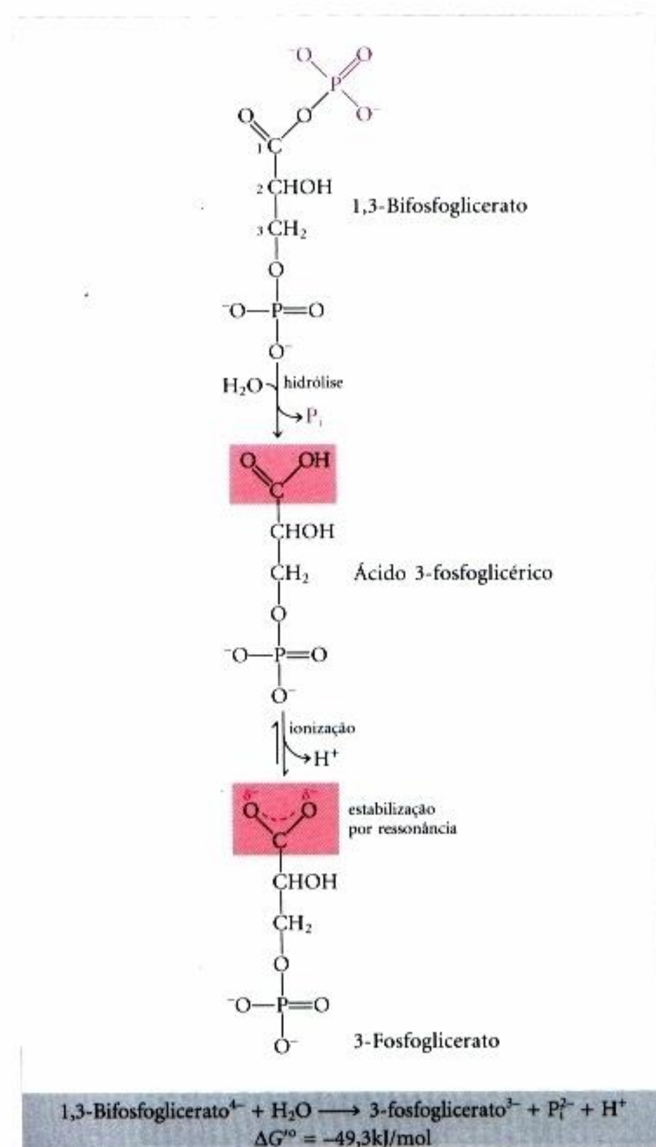



**Figura 14-4 – Hidrólise do 1,3-difosfoglicerato**. O produto direto da hidrólise é o ácido 3-fosfoglicérico, que apresenta um grupo ácido carboxílico não-dissociado, mas a dissociação ocorre imediatamente. A ionização e as estruturas de ressonância tornam o produto mais estável do que os reagentes. A estabilização do $P_i$ por ressonância representa uma contribuição adicional para a variação de energia livre negativa.

negativa ($\Delta G'° = -49,3kJ/mol$), que pode, também, ser justificada em termos da estrutura dos reagentes e produtos. Quando $H_2O$ é adicionada à ligação anidrido do 1,3-difosfoglicerato, um dos produtos diretos, o ácido 3-fosfoglicérico, pode perder imediatamente um próton formando um íon carboxilato, o 3-fosfoglicerato, que apresenta duas formas de ressonância com a mesma probabilidade de ocorrência (Fig. 14-4). A remoção do produto direto, o ácido 3-fosfoglicérico, e a formação do íon estabilizado por ressonância favorecem a reação direta.

Na fosfocreatina (Fig. 14-5), a ligação P—N pode ser hidrolisada liberando creatina livre e $P_i$. A liberação do $P_i$ e a estabilização por ressonância da creatina favorecem a reação direta. A variação de energia livre padrão de hidrólise da creatina é também alta, ou seja, aproximadamente –43kJ/mol.

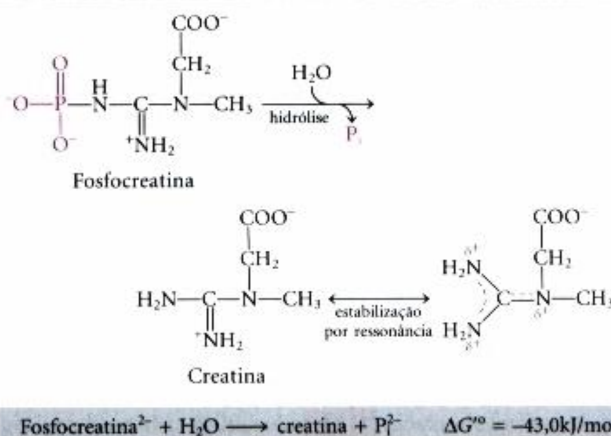



**Figura 14-5 – Hidrólise da fosfocreatina**. O rompimento da ligação P—N da fosfocreatina produz a creatina, que é estabilizada pela formação de um híbrido de ressonância. O outro produto, o $P_i$, também sofre estabilização por ressonância.

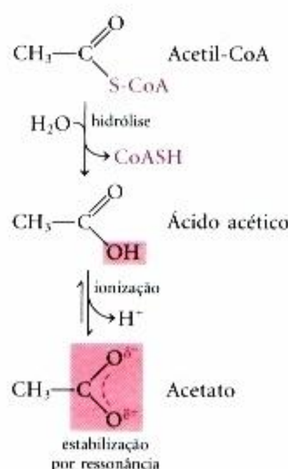
Em todas as reações em que ocorre liberação de fosfato, as diversas formas de ressonância possíveis para $P_i$ (Fig. 14-1) o estabilizam em relação aos reagentes, contribuindo ainda mais para uma variação de energia livre negativa. A Tabela 14-6 mostra a energia livre padrão de hidrólise para alguns compostos fosforilados.

**Tabela 14-6 – Valores da energia livre padrão de hidrólise de alguns compostos fosforilados e da acetil-coenzima A (um tioéster)**

| | $\Delta G'°$ (kJ/mol) | $\Delta G'°$ (kcal/mol) |
|---|---|---|
| Fosfoenolpiruvato | –61,9 | –14,8 |
| 1,3-difosfoglicerato (→ 3-fosfoglicerato + $P_i$) | –49,3 | –11,8 |
| Fosfocreatina | –43,0 | –10,3 |
| ADP (→ AMP + $P_i$) | –32,8 | –7,8 |
| ATP (→ ADP + $P_i$) | –30,5 | –7,3 |
| ATP (→ AMP + $PP_i$) | –45,6 | –10,9 |
| AMP (→ adenosina + $P_i$) | –14,2 | –3,4 |
| $PP_i$ (→ 2$P_i$) | –19,0 | –4,0 |
| Glicose-1-fosfato | –20,9 | –5,0 |
| Frutose-6-fosfato | –15,9 | –3,8 |
| Glicose-6-fosfato | –13,8 | –3,3 |
| Glicerol-1-fosfato | –9,2 | –2,2 |
| Acetil-CoA | –31,4 | –7,5 |

**Fonte**: Dados extraídos em sua maior parte de Jencks WP. (1976) In *Handbook of Biochemistry and Molecular Biology*, 3rd edn (Fasman GD, ed), *Physical and Chemical Data*, Vol. I, pp. 296-304, CRC Press, Boca Raton, FL. O novo valor para a energia livre da hidrólise do $PP_i$ veio de Frey, P.A. & Arabshahi, A. (1995). Standard free-energy change for the hidrolysis of the α-β-phosphoanhydride bridge in ATP. *Biochemistry* **34**, 11.307-11.310.

Os **tioésteres**, nos quais o oxigênio na ligação éster é substituído por um átomo de enxofre, também apresentam energia livre padrão de hidrólise alta e negativa. A acetil-coenzima A, ou acetil-CoA (Fig. 14-6), é um dos muitos tioésteres importantes no metabolismo. O grupo acila nesses compostos é ativado por transacilação, por condensação ou por reações de oxidação-redução. Os tioésteres sofrem muito menos estabilização por ressonância do que os ésteres de oxigênio (Fig. 14-7); conseqüentemente, a diferença de energia livre entre os reagentes e os seus produtos de hidrólise, que *são* estabilizados por ressonância, é maior para os tioésteres quando comparados aos ésteres de oxigênio equivalentes. Em ambos os casos, a hidrólise do éster produz um ácido carboxílico, que pode ionizar-se assumindo diferentes formas de ressonância (Fig. 14-6). Em conjunto, esses fatores resultam em um $\Delta G'^{o}$ bastante negativo para a hidrólise do acetil-CoA, ou seja, $-31$kJ/mol.



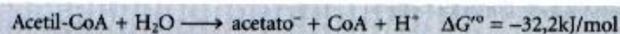




**Figura 14-6 – Hidrólise da acetil-coenzima A**. A acetil-CoA é um tioéster com energia livre de hidrólise alta e negativa. Os tioésteres contêm um átomo de enxofre na posição em que os ésteres de oxigênio possuem um átomo de oxigênio. A estrutura completa da coenzima A (CoASH) é mostrada na Figura 10-41.

Em resumo, para reações de hidrólise com variações de energia livre padrão altas e negativas, os produtos são mais estáveis do que os reagentes, em decorrência de um ou mais dos seguintes fatores: (1) a tensão da ligação nos reagentes devido à repulsão eletrostática é aliviada pela separação das cargas, como no caso do ATP (descrito anteriormente); (2) os produtos são estabilizados por ionização, como no caso do ATP, acilfosfatos e tioésteres; (3) os produtos são estabilizados por isomerização (tautomerização), como no caso do fosfoenolpiruvato; e/ou (4) os produtos são estabilizados por ressonância, como no caso da creatina liberada da fosfocreatina, do íon carboxilato liberado dos acilfosfatos e tioésteres, e do fosfato ($P_i$) liberado das ligações anidrido ou éster.

## O ATP fornece energia por transferência de grupos, e não por simples hidrólise

Ao longo deste livro serão encontradas reações ou processos para os quais o ATP fornece energia, sendo que a sua participação é geralmente indicada conforme apresentado na Figura 14-8a, ou seja, com uma seta simples mostrando a conversão do ATP em ADP e $P_i$, ou do ATP em AMP e $PP_i$ (pirofosfato). Essas reações do ATP, quando apresentadas dessa forma, aparentam ser simples reações de hidrólise nas quais a água desloca o $P_i$ ou o $PP_i$, e, assim, poder-se-ia supor que uma reação dependente de ATP é "impulsionada pela hidrólise do ATP". Entretanto, esse *não* é o caso. A hidrólise do ATP, por si, geralmente nada produz além da liberação de calor, o qual não é capaz de promover um processo químico em um sistema isotérmico. As reações representadas por setas simples, tais como as apresentadas na Figura 14-8a, quase sempre correspondem a processos compreendidos por duas etapas (Fig. 14-8b), nas quais parte da molécula de ATP, ou seja, os grupos fosforil, pirofosforil ou adenilato (AMP) são primeiramente transferidos para uma molécula de substrato ou para um resíduo de aminoácido em uma enzima, ligando-se covalentemente a eles e aumentando os seus conteúdos de energia livre. Na segunda etapa, o segmento contendo o grupo fosforil transferido na primeira etapa é deslocado, liberando $P_i$, $PP_i$ ou AMP. Assim, o ATP participa *covalentemente* da reação catalisada enzimaticamente, para a qual ele fornece energia livre.

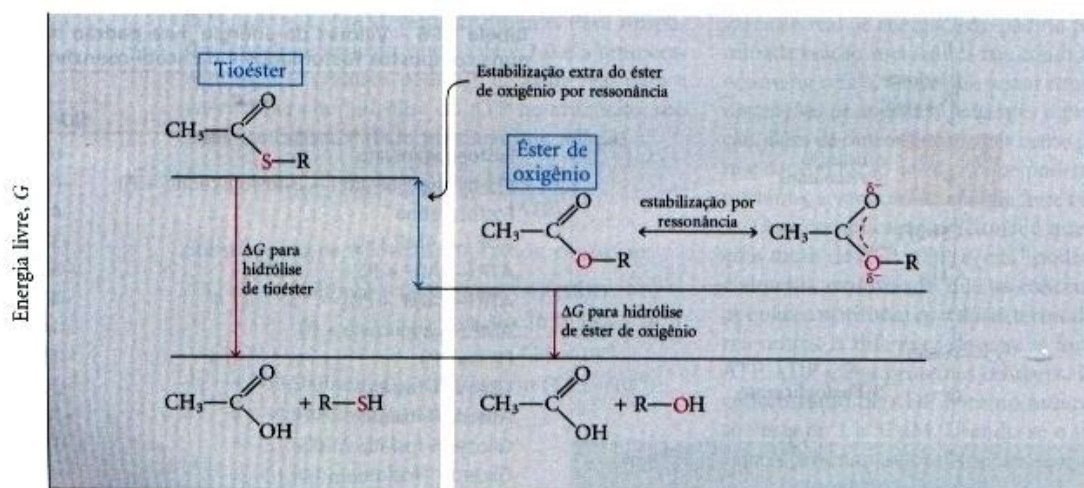



**Figura 14-7 – Energia livre de hidrólise dos tioésteres e ésteres de oxigênio**. Os *produtos* de ambos os tipos de reação de hidrólise possuem aproximadamente a mesma quantidade de energia livre (*G*), mas os tioésteres contêm maior quantidade de energia livre do que os ésteres de oxigênio. A sobreposição de orbitais entre os átomos de O e C resulta em estabilização por ressonância nos ésteres de oxigênio, mas a sobreposição de orbitais entre os átomos de S e C é pouco expressiva, resultando em baixo grau de estabilização por ressonância.

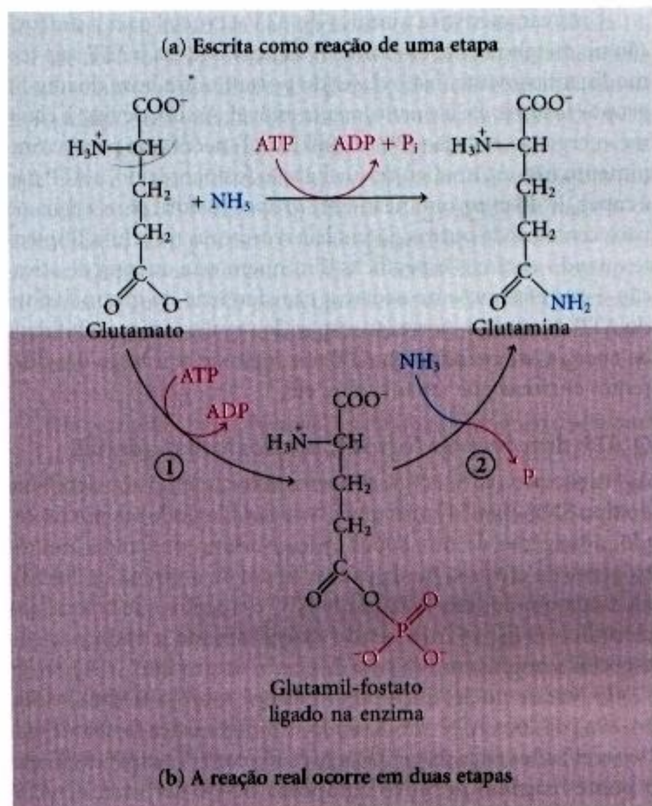



**Figura 14-8 – Hidrólise do ATP em duas etapas**. A contribuição do ATP para uma reação é geralmente mostrada como apresentando uma única etapa (**a**); entretanto, é quase sempre um processo de duas etapas, como apresentado para a reação catalisada pela glutamina sintetase dependente de ATP (**b**). ① Um grupo fosforil é primeiramente transferido do ATP para o glutamato, ② sofrendo deslocamento por $NH_3$ e sendo liberado na forma de $P_i$.

Entretanto, alguns processos envolvem a hidrólise direta do ATP (ou GTP). Por exemplo, a ligação não-covalente do ATP (ou do GTP), seguida por sua hidrólise a ADP (ou GDP) e $P_i$, pode fornecer a energia necessária para alternar a conformação de algumas proteínas, produzindo trabalho mecânico. Isso ocorre na contração muscular e no movimento de enzimas ao longo da cadeia de DNA ou no movimento dos ribossomos ao longo do RNA mensageiro. As reações dependentes de energia catalisadas pelas helicases, proteína RecA, e algumas topoisomerases (Capítulo 25) também envolvem a hidrólise direta de ligações fosfoanidrido. Proteínas ligantes de GTP que atuam em vias de sinalização hidrolisam o GTP diretamente, promovendo alterações conformacionais em resposta a sinais desencadeados por hormônios ou por outros fatores extracelulares (Capítulo 13).

Os compostos de fosfato encontrados nos organismos vivos podem ser divididos arbitrariamente em dois grupos, com base em seus valores de energia livre padrão de hidrólise (Fig. 14-9). Os compostos de "alta energia" apresentam valor de $\Delta G'^{\circ}$ de hidrólise mais negativo do que –25kJ/mol, enquanto os compostos de "baixa energia" apresentam valor de $\Delta G'^{\circ}$ menos negativo. Com base nesse critério, o ATP, com $\Delta G'^{\circ}$ de hidrólise igual a –30,5kJ/mol (–7,3kcal/mol), é um composto de alta energia, enquanto a glicose-6-fosfato, com $\Delta G'^{\circ}$ de hidrólise igual a –13,8kJ/mol (–3,3kcal/mol), é um composto de baixa energia.

O termo "ligação fosfato de alta energia", amplamente utilizado por bioquímicos para descrever o rompimento da ligação P—O na reação de hidrólise, é incorreto por sugerir que a energia é intrínseca à ligação. De fato, o rompimento de ligações químicas requer um *fornecimento* de energia. Entretanto, a energia livre liberada pela hidrólise de compostos de fosfato não provém da ligação específica que é rompida, mas, antes, ela resulta dos produtos da reação, que apresentam um conteúdo de energia livre menor do que o dos reagentes. Por simplificação, algumas

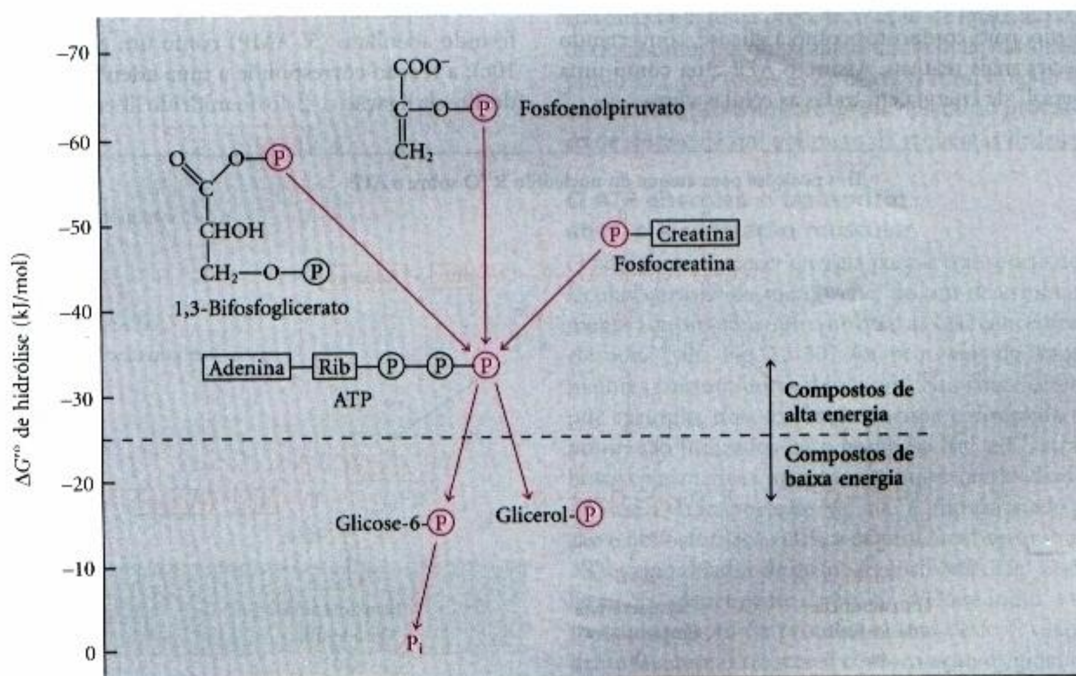



**Figura 14-9 – Seleção dos compostos fosfatados de importância biológica por energia livre padrão de hidrólise**. Esta figura apresenta o fluxo dos grupos fosforil, representado por Ⓟ, a partir de doadores de grupos fosforil de alta energia, via ATP, para moléculas receptoras (tal como a glicose e o glicerol), formando seus derivados fosfato de baixa energia. Esse fluxo de grupos fosforil, catalisado por enzimas denominadas **quinases**, ocorre nas condições intracelulares com uma perda total de energia livre. A hidrólise de compostos de fosfato de baixa energia libera $P_i$, que apresenta um potencial de transferência de grupo fosforil ainda menor (conforme definido no texto).

vezes será utilizado o termo "compostos de fosfato de alta energia" quando nos referirmos ao ATP ou a outros compostos de fosfato com energia livre padrão de hidrólise bastante negativa.

Por serem aditivas as variações de energia livre de reações seqüenciais, qualquer composto fosforilado pode ser sintetizado mediante acoplamento com o rompimento de um outro composto fosforilado com energia livre de hidrólise mais negativa. Por exemplo, pelo fato de o rompimento do $P_i$ do fosfoenolpiruvato (PEP) liberar mais energia do que a energia necessária para a condensação do $P_i$ com ADP, a transferência direta de um grupo fosforil do PEP para o ADP é termodinamicamente viável:

| | | $\Delta G'^{\circ}$ (kJ/mol) |
|---|---|---|
| (1) | PEP + $H_2O \longrightarrow$ piruvato + $P_i$ | −61,9 |
| (2) | ADP + $P_i \longrightarrow$ ATP + $H_2O$ | +30,5 |
| *Somatório*: | PEP + ADP $\longrightarrow$ piruvato + ATP | −31,4 |

Podem-se, portanto, descrever os compostos fosforilados como sendo dotados de um alto ou baixo potencial de transferência de grupos fosforil. Assim, o potencial de transferência do grupo fosforil do fosfoenolpiruvato é muito alto, o do ATP é alto e o da glicose-6-fosfato é baixo.

Grande parte do catabolismo é direcionada para a síntese de compostos de fosfato de alta energia, embora a formação deles não seja um objetivo em si. Antes, essa é a forma de ativar uma grande variedade de compostos para sofrer transformações químicas posteriores. A transferência de um grupo fosforil para um composto efetivamente injeta energia livre nele, de tal forma que ele passa a apresentar maior quantidade de energia livre para liberar em transformações metabólicas subseqüentes. Foi mostrado acima como a síntese da glicose-6-fosfato é associada à transferência do grupo fosforil do ATP. No próximo capítulo será examinado como a fosforilação ativa ou "prepara" a glicose para as reações catabólicas que ocorrem em quase todas as células vivas. Devido a sua posição intermediária na escala de potencial de transferência de grupo, o ATP é capaz de transportar energia dos compostos de fosfato de alta energia, produzidos pelo catabolismo, para compostos como a glicose, convertendo esses em espécies mais reativas. Assim, o ATP atua como uma "moeda universal" de energia em todas as células vivas.

Uma característica química do ATP é crucial para a sua função no metabolismo: embora em solução aquosa o ATP seja termodinamicamente instável, sendo portanto um bom doador de grupos fosforil, ele é *cineticamente* estável. Assim, devido à enorme energia de ativação (200 a 400kJ/mol) necessária para o rompimento não enzimático de sua ligação fosfoanidrido, o ATP não é capaz de doar espontaneamente grupos fosforil para a água ou para centenas de outros potenciais receptores na célula. Somente quando enzimas específicas diminuem essa energia de ativação é que efetivamente ocorre a transferência do grupo fosforil do ATP. A célula é, portanto, capaz de regular a disponibilidade da energia armazenada no ATP por meio de regulação das diferentes enzimas que atuam sobre ele.

## O ATP doa grupos fosforil, pirofosforil e adenilil

As reações do ATP são geralmente deslocamentos nucleofílicos do tipo SN2 (pág. 51), nos quais o nucleófilo pode ser, por exemplo, o oxigênio de um álcool ou carboxilato ou, ainda, um nitrogênio da creatina ou da cadeia lateral da arginina ou histidina. Cada um dos três fosfatos do ATP é suscetível ao ataque nucleofílico (Fig. 14-10), sendo que o ataque a cada posição específica resulta em um tipo diferente de produto.

O ataque nucleofílico de um álcool sobre o fosfato γ (Fig. 14-10a) desloca ADP produzindo um novo éster fosfato. Estudos realizados com reagentes marcados com $^{18}O$ mostraram que a ponte oxigênio no novo composto não é derivada do ATP, mas sim do álcool; o grupo transferido do ATP não é um fosfato (—$OPO_3^{2-}$), mas sim um fosforil (—$PO_3^{2-}$). A transferência do grupo fosforil do ATP para o glutamato (Fig. 14-8) ou para a glicose (pág. 212) envolve ataque na posição γ da molécula de ATP.

O ataque ao fosfato β do ATP desloca AMP, cedendo um grupo pirofosforil (não-pirofosfato) para o ataque nucleofílico (Fig. 14-10b). Por exemplo, a formação do 5'-fosforibose 1-pirofosfato, um intermediário central na síntese do nucleotídeo, ocorre à medida que um grupo —OH da ribose ataca o fosfato β.

O ataque nucleofílico à posição α do ATP desloca $PP_i$, transferindo adenilato (5'-AMP) como um grupo adenilil (Fig. 14-10c); a reação corresponde a uma **adenililação**. Note que a hidrólise da ligação α-β-fosfoanidrido libera mais energia (~46kJ/

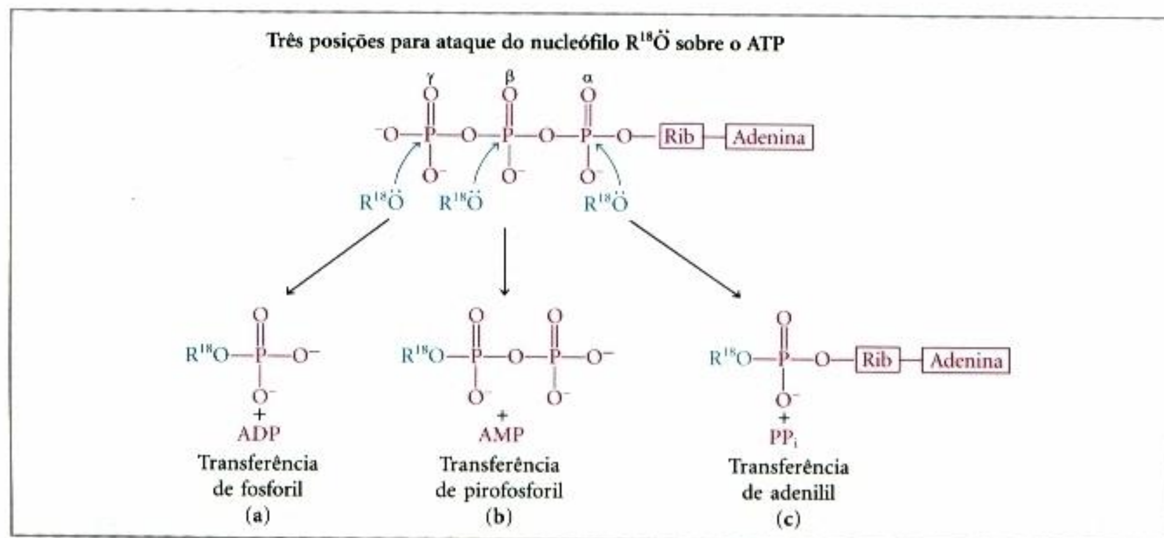
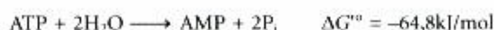



**Figura 14-10 – Reações de deslocamento nucleofílico do ATP**. Um dos três átomos de P (α, β ou γ) pode servir como alvo eletrofílico para o ataque nucleofílico, neste caso pelo nucleófilo marcado R—$^{18}$O:. O nucleófilo pode ser um álcool (ROH), um grupo carboxila ($RCOO^-$) ou ainda um fosfoanidrido (um nucleosídeo mono ou difosfato, por exemplo). (**a**) Quando o oxigênio do nucleófilo ataca a posição γ, a ponte oxigênio do produto sofre marcação, indicando que o grupo transferido do ATP não é um fosfato (—$OPO_3^{2-}$), mas sim um fosforil (—$PO_3^{2-}$). (**b**) O ataque na posição β desloca AMP promovendo a transferência de um grupo pirofosforil (não-pirofosfato) para o nucleófilo. (**c**) O ataque na posição α desloca $PP_i$ transferindo o grupo adenilil para o nucleófilo.

mol) do que a hidrólise da ligação β-γ (~31kJ/mol) (Tabela 14-6). Além disso, o $PP_i$ formado como um subproduto da adenililação é hidrolisado liberando dois $P_i$ por ação da **pirofosfatase inorgânica**, uma enzima de presença constante, liberando 19kJ/mol e fornecendo, portanto, uma energia adicional de "arranque" para a reação de adenililação. Assim, ambas as ligações fosfoanidrido do ATP são rompidas na reação total. As reações de adenililação são, portanto, termodinamicamente muito favoráveis. Quando a energia do ATP é requerida para promover uma reação metabólica particularmente desfavorável, a adenililação é freqüentemente o mecanismo de acoplamento de energia empregado. A ativação dos ácidos graxos é um bom exemplo dessa estratégia.

Na primeira etapa de ativação de um ácido graxo, seja para oxidação geradora de energia (veja Fig. 17-5) ou para utilização na síntese de lipídios mais complexos (Capítulo 21), ele é ligado ao carreador coenzima A (Fig. 14-11). A condensação direta de um ácido graxo com a coenzima A é endergônica, mas a formação do acil graxo-CoA torna-se exergônica pela remoção seqüencial de *dois* grupos fosforil do ATP. Primeiramente, o adenilato (AMP) é transferido do ATP para o grupo carboxila do ácido graxo, formando um anidrido misto (acil graxo-adenilato) e liberando $PP_i$. O grupo tiol da coenzima A desloca então o grupo adenilato, formando um tioéster com o ácido graxo. O somatório dessas duas reações é energeticamente equivalente à hidrólise exergônica do ATP em AMP e $PP_i$ ($\Delta G'^{\circ}$ = –45,6kJ/mol) e à formação endergônica do acil graxo-CoA ($\Delta G'^{\circ}$ = 31,4kJ/mol). A formação do acil graxo-CoA torna-se energeticamente favorável pela hidrólise do $PP_i$ por meio da ação da pirofosfatase inorgânica. Assim, na ativação de um ácido graxo, ambas as ligações fosfoanidrido do ATP são rompidas. O valor de $\Delta G'^{\circ}$ resultante corresponde ao somatório dos valores de $\Delta G'^{\circ}$ para o rompimento dessas ligações, ou seja, –45,6kJ/mol + (–19,22)kJ/mol:



$$ATP + 2H_2O \longrightarrow AMP + 2P_i \qquad \Delta G'^{\circ} = -64{,}8kJ/mol$$

A ativação dos aminoácidos que precede a formação de proteínas (veja Fig. 27-16) é acompanhada de uma série de reações análogas nas quais a coenzima A é substituída por uma molécula de RNA de transferência. Uma rara utilização do rompimento do ATP em AMP e $PP_i$ ocorre no vaga-lume, que utiliza ATP como fonte de energia para produção de lampejos de luz (Adendo 14-3).

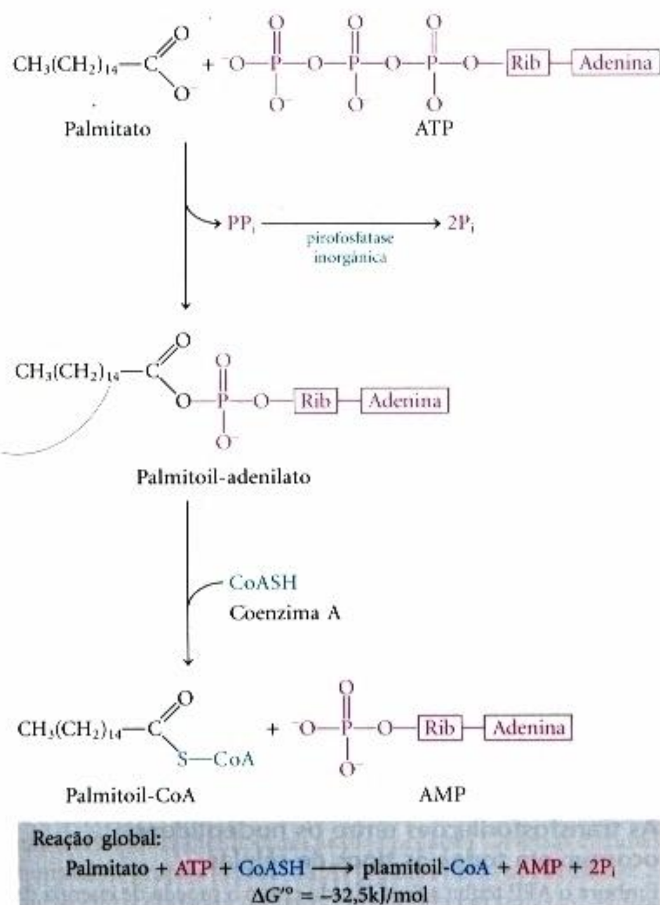



**Figura 14-11 – Reação de adenililação na ativação de um ácido graxo**. Ambas as ligações fosfoanidrido do ATP são eventualmente rompidas na formação de palmitoil-coenzima A. Primeiro, o ATP doa adenilato (AMP), formando o acil graxo-adenilato e liberando $PP_i$, que é hidrolisado pela pirofosfatase inorgânica. O grupo acil-graxo "energizado" é então transferido para a coenzima A (CoASH), com a qual ele forma uma ligação tioéster que conserva parte da energia resultante do ATP.

## A síntese de macromoléculas informacionais requer energia

Quando precursores simples são ligados formando polímeros de alto peso molecular com seqüências ordenadas (DNA, RNA, proteínas), conforme descrito em detalhes na Parte IV deste livro, é necessária energia tanto para a condensação das unidades monoméricas quanto para a formação das seqüências *ordenadas*. Os precursores das sínteses de DNA e RNA são nucleosídeos trifosfato, sendo a polimerização acompanhada de rompimento da ligação fosfoanidrido entre os fosfatos α e β, com liberação de $PP_i$ (Fig. 14-12). Os segmentos transferidos para o polímero em crescimento nessas reações são adenilato (AMP), guanilato (GMP), citidilato (CMP) ou uridilato (UMP) para a síntese de RNA, e seus "desoxi-" análogos (com TMP substituindo UMP) para a síntese de DNA. Conforme mencionado, a ativação dos aminoácidos para a síntese de proteínas envolve a transferência de grupos adenilato do ATP; posteriormente será abordado o fato de que a formação de ligações peptídicas sobre os ribossomos é acompanhada também de hidrólise do GTP (Capítulo 27). Em todos esses casos, o rompimento exergônico de um nucleosídeo trifosfato está acoplado ao processo endergônico de síntese de um polímero de seqüência ordenada.

## O ATP energiza o transporte ativo e a contração muscular

O ATP pode fornecer energia para o transporte de íons ou moléculas, através da membrana, de um determinado compartimento aquoso para outro no qual as suas concentrações são mais elevadas (veja Fig. 12-30). Os processos de transporte são os maiores consumidores de energia. Nos rins e cérebro humanos, por exemplo, dois terços da energia consumida durante o repouso são utilizados para bombear $Na^+$ e $K^+$ através de membranas plasmáticas, um processo que é intermediado pela $Na^+K^+$-ATPase. O transporte de $Na^+$ e $K^+$ é impulsionado pela fosforilação e desfosforilação cíclica da proteína transportadora, tendo o ATP como doador de grupo fosforil (veja Fig. 12-34). A fosforilação $Na^+$-dependente da $Na^+K^+$-ATPase induz a uma alteração na conformação da proteína e uma desfosforilação $K^+$-dependente favorece o retorno à conformação original. Cada ciclo no processo de transporte resulta na conversão de ATP em ADP e $P_i$, sendo a variação de energia livre da hidrólise do ATP responsável pela indução de alterações cíclicas na conformação da proteína e conseqüente bombeamento eletrogênico de $Na^+$ e $K^+$. Note que, neste caso, o ATP interage covalentemente transferindo grupo fosforil à enzima, não ao substrato.

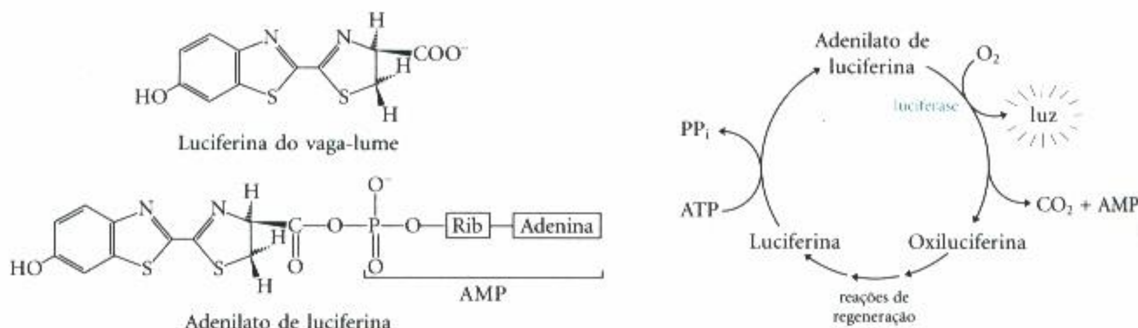
## Adendo 14-3 O relampear dos vaga-lumes: relatos brilhantes do ATP

A bioluminescência necessita de uma quantidade considerável de energia. No vaga-lume, o ATP é utilizado em uma variedade de reações que convertem energia química em energia luminosa. De milhares de vaga-lumes coletados por crianças nas imediações de Baltimore, William McElroy e seus colaboradores da Universidade Johns Hopkins isolaram os principais componentes bioquímicos: a luciferina, um ácido carboxílico complexo, e a luciferase, uma enzima. A emissão de um lampejo requer a ativação da luciferina por meio de uma reação enzimática envolvendo a quebra do ATP em pirofosfato com formação de adenilato de luciferina. Em presença de oxigênio molecular e luciferase, a luciferina sofre um processo gradual de descarboxilação oxidativa a oxiluciferina. Esse processo é acompanhado por emissão de luz. A cor dos lampejos difere em função da espécie de vaga-lume e parece ser determinada por diferenças na estrutura da luciferase. Por uma série de reações subseqüentes, a luciferina é regenerada a partir da oxiluciferina.

Em laboratório, luciferina e luciferase purificadas de vaga-lume possibilitam, em função da intensidade luminosa produzida, medir quantidades de ATP tão pequenas quanto alguns poucos picomoles ($10^{-12}$ mol). Uma extensão ilustrativa dos estudos com luciferase é a clonagem de seu gene em plantas de tabaco. Quando irrigadas com uma solução contendo luciferina, essas plantas fosforescem no escuro (veja Fig. 29-20).



O vaga-lume, um besouro da família Lampyridae.




Componentes importantes que participam do ciclo de bioluminescência do vaga-lume.

No sistema contrátil das células do músculo esquelético, a miosina e a actina são proteínas especializadas em transduzir a energia química do ATP em movimento (veja Fig. 7-33). O ATP liga-se fortemente, embora não-covalentemente, a uma conformação da miosina, mantendo-a nessa conformação. Quando a miosina catalisa a hidrólise do ATP ligado, o ADP e $P_i$ dissociam-se da proteína permitindo o seu relaxamento em uma outra conformação, que se mantém até a ligação de uma outra molécula de ATP. A ligação e a subseqüente hidrólise do ATP (pela miosina ATPase) fornecem a energia que induz a alterações cíclicas na conformação da cabeça da molécula de miosina. A alteração na conformação de várias moléculas individuais de miosina resulta no deslizamento das fibrilas da proteína ao longo dos filamentos de actina (veja Fig. 7-32), promovendo a contração macroscópica da fibra muscular. Essa produção de movimento mecânico à custa do ATP é, conforme mencionado anteriormente, um dos poucos casos em que a hidrólise do ATP por si, e não a transferência de grupo do ATP, é a fonte de energia química em um processo acoplado.

### As transfosforilações entre os nucleotídeos ocorrem em todos os tipos de células

Embora o ATP tenha sido definido como a moeda de energia da célula e o doador de grupos fosforil, todos os outros nucleosídeos trifosfato (GTP, UTP e CTP) e todos os desoxinucleosídeos trifosfato (dATP, dGTP, dTTP e dCTP) são energeticamente equivalentes ao ATP. As variações de energia livre que acompanham a hidrólise de suas ligações fosfoanidrido são bastante semelhantes àquelas apresentadas na Tabela 14-6 para o ATP. Na preparação para as suas diferentes funções biológicas, esses outros nu-

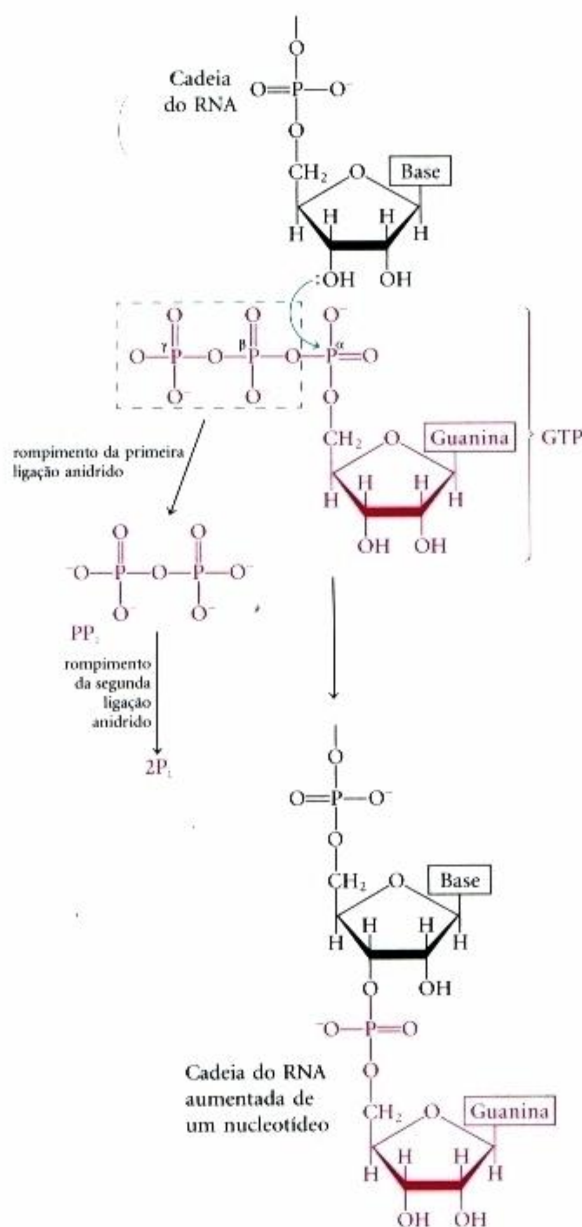



**Figura 14-12 – Nucleosídeos trifosfato na síntese do RNA.** Com cada nucleosídeo monofosfato adicionado à cadeia em crescimento, um PP$_i$ é liberado e hidrolisado a dois P$_i$. A hidrólise de duas ligações fosfoanidrido para cada nucleotídeo adicionado fornece a energia para a formação das ligações no polímero de RNA e para a montagem de uma seqüência ordenada de nucleotídeos.

cleotídeos são formados e mantidos como nucleosídeos trifosfato (NTP) mediante transferência do grupo fosforil aos nucleosídeos difosfato (NDPs) e monofosfato (NMPs) correspondentes.

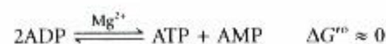
O ATP é o composto fosfato de alta energia primário produzido pelo catabolismo na glicólise, fosforilação oxidativa e, em células fotossintéticas, na fotofosforilação. Diversas enzimas transferem grupos fosforil do ATP para outros nucleotídeos. A **nucleosídeo difosfato quinase**, encontrada em todas as células, catalisa a reação



$$\text{ATP} + \text{NDP (ou dNDP)} \xrightleftharpoons{Mg^{2+}} \text{ADP} + \text{NTP (ou dNTP)} \qquad \Delta G'^{\circ} \approx 0$$

Embora esta reação seja totalmente reversível, a razão [ATP]/[ADP] relativamente alta nas células, normalmente, impulsiona a reação para a direita, com a nova formação de NTPs e dNTPs. A enzima, na realidade, catalisa uma transferência de grupo fosforil em duas etapas. Primeiramente, a transferência do grupo fosforil do ATP para um resíduo de His do sítio ativo produz uma fosfoenzima intermediária; o grupo fosforil é então transferido do resíduo de Ⓟ-His para um receptor de NDP. Por ser a enzima não específica para a base no NDP, atuando com a mesma eficiência sobre NDPs e dNDPs, ela é capaz de sintetizar todos os NTPs e dNTPs, gerando os NDPs correspondentes e um suprimento de ATP.

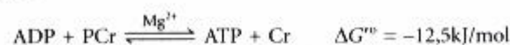
Quando ocorre acúmulo de ADP decorrente da transferência de grupos fosforil do ATP, como no caso de uma contração muscular vigorosa, o ADP interfere na contração dependente de ATP. Nesse caso, a **adenilato quinase** remove ADP por meio da reação



$$2\text{ADP} \xrightleftharpoons{Mg^{2+}} \text{ATP} + \text{AMP} \qquad \Delta G'^{\circ} \approx 0$$

Esta reação é totalmente reversível, de tal forma que a enzima pode converter também AMP (produzido pela transferência de grupos pirofosforil ou adenilil do ATP) em ADP, que pode então ser fosforilado a ATP por meio de uma das vias catabólicas. Uma enzima semelhante, a guanilato quinase, converte GMP em GDP à custa de ATP. Por meio de vias como essas, a energia conservada na produção catabólica do ATP é utilizada para suprir a célula com todos os NTPs e dNTPs necessários.

A fosfocreatina (Fig. 14-5), também denominada creatina fosfato, é uma fonte de grupos fosforil para uso imediato, promovendo a formação rápida de ATP a partir do ADP. A concentração de fosfocreatina (PCr) no músculo esquelético é de aproximadamente 30mM, quase dez vezes superior à concentração de ATP, e em outros tecidos tais como músculo liso, cérebro e rim é de 5 a 10mM. A enzima **creatina quinase** catalisa a reação reversível

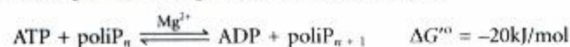


$$\text{ADP} + \text{PCr} \xrightleftharpoons{Mg^{2+}} \text{ATP} + \text{Cr} \qquad \Delta G'^{\circ} = -12{,}5\text{kJ/mol}$$

Quando uma súbita demanda por energia esgota o ATP, o reservatório de PCr o repõe a uma velocidade consideravelmente superior àquela pela qual ele é sintetizado por meio das vias catabólicas. Quando a demanda por energia diminui, o ATP produzido pelo catabolismo é utilizado para repor o reservatório de PCr por meio do reverso da reação da creatina quinase. Organismos inferiores utilizam outras moléculas do tipo da PCr (denominadas coletivamente de **fosfagens**) como reservatórios de grupos fosforil.

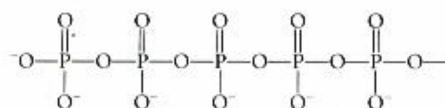
## O polifosfato inorgânico é um doador potencial de grupos fosforil

O polifosfato inorgânico (poliP) é um polímero linear composto por centenas de resíduos de P$_i$ ligados por meio de ligações fosfoanidrido. Esse polímero, presente nas células de todos os organismos, possui aproximadamente o mesmo potencial de transferência de grupos fosforil do PP$_i$; a sua função biológica ainda não é conhecida. Na *Escherichia coli*, poliP é acumulado quando as células estão crescendo em meio com excesso de P$_i$, sendo que esse acúmulo representa uma vantagem para a sobrevivência durante períodos de estresse nutricional ou oxidativo. A enzima **polifosfato quinase** catalisa a reação



$$\text{ATP} + \text{poliP}_n \xrightleftharpoons{Mg^{2+}} \text{ADP} + \text{poliP}_{n+1} \qquad \Delta G'^{\circ} = -20\text{kJ/mol}$$

por meio de mecanismo envolvendo um intermediário fosfoistidina ligado à enzima (relembrar o mecanismo da nucleosídio difosfato quinase, descrito anteriormente). Pelo fato de a reação ser reversível, o poliP (tal qual o PCr) poderia servir como reservatório de grupos fosforil, ou ainda como um doador de grupos



Polifosfato inorgânico (poliP)

fosforil análogo ao ATP no que se refere às transferências catalisadas por quinases. O menor polifosfato, $PP_i$ ($n = 2$), pode servir como fonte de energia para o transporte ativo de $H^+$ em vacúolos de plantas. O $PP_i$ é também o habitual doador de grupos fosforil para pelo menos uma forma da enzima fosfofrutoquinase em plantas, uma função normalmente exercida pelo ATP em animais e microrganismos (pág. 413). A descoberta de elevadas concentrações de poliP em condensados e vapores vulcânicos sugere que ele poderia ter servido como fonte de energia na evolução celular pré-biótica e primitiva.

### As equações bioquímicas e químicas não são idênticas

Bioquímicos escrevem equações metabólicas em uma forma simplificada, particularmente as reações envolvendo o ATP. Compostos fosforilados podem existir em diferentes estados de ionização, e, conforme já mencionado, as diferentes espécies podem ligar $Mg^{2+}$. Por exemplo, em pH 7,0 e concentração de $Mg^{2+}$ igual a 2mM, o ATP encontra-se nas formas $ATP^{4-}$, $HATP^{3-}$, $H_2ATP^{2-}$, $MgHATP^-$ e $Mg_2ATP$. Entretanto, quando se considera a função biológica do ATP, nem sempre todos esses detalhes são relevantes, podendo o termo ATP representar todas as espécies envolvidas. Portanto, a sua hidrólise pode ser representada pela equação bioquímica



$$ATP + H_2O \longrightarrow ADP + P_i$$

na qual ATP, ADP e $P_i$ correspondem aos somatórios das espécies. A constante de equilíbrio aparente

$$K'_{eq} = [ADP][P_i]/[ATP]$$

depende do pH e da concentração de $Mg^{2+}$ livre. Pode-se observar que $H^+$ e $Mg^{2+}$ não aparecem na equação bioquímica porque eles são mantidos constantes. Assim, uma equação bioquímica não inclui o balanceamento de H, Mg ou carga, embora ela inclua o balanceamento de todos os outros elementos envolvidos na reação (C, N, O e P na equação citada).

Pode-se escrever uma equação química incluindo o balanceamento de todos os elementos e cargas. Por exemplo, quando o ATP é hidrolisado em valores de pH acima de 8,5 na ausência de $Mg^{2+}$, a reação química é representada por



$$ATP^{4-} + H_2O \longrightarrow ADP^{3-} + HPO_4^{2-} + H^+$$

A constante de equilíbrio correspondente

$$K'_{eq} = [ADP^{3-}][HPO_4^{2-}][H^+]/[ATP^{4-}]$$

depende somente da temperatura, pressão e força iônica.

Ambas as formas de se escrever uma reação metabólica são relevantes em bioquímica. Assim, equações químicas são utilizadas quando se precisa levar em consideração todos os átomos e cargas na reação, como no caso da análise de mecanismos envolvidos. Equações bioquímicas são utilizadas para estabelecer em qual sentido a reação ocorrerá espontaneamente, dado um valor específico de pH e $[Mg^{2+}]$, ou para calcular a constante de equilíbrio dessa reação.

Neste livro serão utilizadas as equações bioquímicas, a não ser quando enfocarmos o mecanismo químico envolvido, além de valores de $\Delta G'^{\circ}$ e $K'_{eq}$ determinados em pH 7,0 e na presença de $Mg^{2+}$ 1mM.

## Reações Biológicas de Oxidação-Redução

A transferência de grupos fosforil é um evento central no metabolismo. Igualmente importante é a transferência de elétrons em reações de oxidação-redução. Essas reações envolvem a perda de elétrons por uma determinada espécie química, que sofre oxidação, e a captação de elétrons por uma outra espécie química, que sofre redução. O fluxo de elétrons em reações de oxidação-redução é responsável, direta ou indiretamente, por todos os trabalhos realizados pelos organismos vivos. Em organismos não-fotossintéticos, as fontes de elétrons são compostos reduzidos (alimentos); em organismos fotossintéticos, o doador inicial de elétrons é uma espécie química excitada por absorção de luz. A via de transporte de elétrons no metabolismo é complexa. Os elétrons movem-se de diferentes intermediários metabólicos para carreadores de elétrons especializados, por meio de reações catalisadas enzimaticamente. Os carreadores, por sua vez, doam-nos a receptores com maior afinidade por elétrons, liberando energia. As células contêm uma variedade de transdutores moleculares de energia, que convertem a energia do fluxo de elétrons em trabalho útil.

Nossa discussão terá início com a descrição dos tipos gerais de reações metabólicas que envolvem a transferência de elétrons. Após a consideração das bases teóricas e experimentais para medir as alterações de energia nas reações de oxidação, em termos de força eletromotiva, será discutida a relação entre essa força, expressa em volts, e a variação de energia livre, expressa em joules. Concluiremos com a discussão das estruturas e da química de oxidação-redução dos mais comuns dos transportadores de elétrons especializados, que serão mencionados freqüentemente nos próximos capítulos.

### O fluxo de elétrons pode realizar trabalho biológico

Sempre que se liga um motor, a luz elétrica ou o aquecedor, ou ainda quando uma faísca promove a combustão da gasolina em um motor de veículo, o fluxo de elétrons é utilizado para realizar trabalho. No circuito que impulsiona um motor, a fonte de elétrons pode ser uma bateria contendo duas espécies químicas que diferem na afinidade por elétrons. Os fios elétricos fornecem um caminho para o fluxo de elétrons de uma espécie química em um pólo da bateria, por meio do motor, para a espécie química no outro pólo da bateria. Pelo fato de as duas espécies químicas diferirem em suas afinidades por elétrons, estes fluem espontaneamente por meio do circuito, conduzidos por uma força proporcional à diferença na eletroafinidade, a **força eletromotiva (fem)**. A força eletromotiva (tipicamente alguns poucos volts) pode realizar trabalho caso um transdutor de energia apropriado, nesse caso um motor, seja incluído no circuito. O motor pode estar acoplado a uma variedade de dispositivos mecânicos capazes de realizar trabalho útil.

As células vivas possuem um "circuito" biológico análogo, sendo que um composto relativamente reduzido, a glicose, é a fonte de elétrons. A glicose é oxidada enzimaticamente e os elétrons liberados fluem espontaneamente por meio de uma série de carreadores intermediários, para uma outra espécie química, tal como o $O_2$. Esse fluxo é exergônico porque o $O_2$ possui maior afinidade por elétrons do que os carreadores intermediários. A força eletromotiva resultante fornece energia para uma variedade de transdutores moleculares (enzimas e outras proteínas), os quais realizam trabalho biológico. Na mitocôndria, por exemplo, enzimas ligadas à membrana acoplam o fluxo de elétrons à geração de uma diferença de pH transmembrana, realizando trabalho elétrico e osmótico. O gradiente de prótons assim formado possui energia potencial, algumas vezes denominada força

próton motiva por analogia com a força eletromotiva. Uma outra enzima, a ATP sintase na membrana mitocondrial interna, utiliza a força próton motiva para realizar trabalho químico, qual seja, a síntese de ATP a partir de ADP e $P_i$, à medida que os prótons fluem espontaneamente através da membrana. De forma semelhante, na *E. coli*, enzimas localizadas na membrana convertem a força eletromotiva em força próton motiva, utilizada para potencializar o movimento flagelar.

Os princípios da eletroquímica que determinam as alterações energéticas no circuito macroscópico compreendido por um motor e bateria aplicam-se, com igual validade, aos processos moleculares associados ao fluxo de elétrons nas células vivas. Esses princípios serão examinados a seguir.

### Oxidação-redução pode ser descrita na forma de meia-reação

Embora oxidação e redução ocorram conjuntamente, é conveniente que, na descrição da transferência de elétrons, as duas metades de uma reação de oxidação-redução sejam representadas separadamente. Por exemplo, a oxidação do íon ferroso pelo íon cúprico

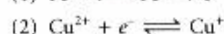


$$Fe^{2+} + Cu^{2+} \rightleftharpoons Fe^{3+} + Cu^{+}$$

pode ser descrita em termos de duas meias-reações:



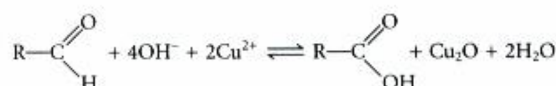
$$(1)\ Fe^{2+} \rightleftharpoons Fe^{3+} + e^{-}$$



$$(2)\ Cu^{2+} + e^{-} \rightleftharpoons Cu^{+}$$

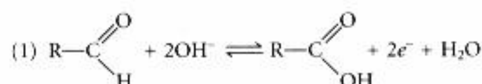
A molécula doadora de elétrons em uma reação de oxidação-redução é denominada agente redutor, ou simplesmente redutor; a molécula receptora de elétrons é o agente oxidante, ou simplesmente oxidante. Um determinado agente, tal como um cátion ferro existente nos estados ferroso ($Fe^{2+}$) ou férrico ($Fe^{3+}$), funciona como um par oxidante-redutor conjugado (par redox), da mesma forma que um ácido e a sua base correspondente funcionam como um par ácido-base conjugado. Relembre do Capítulo 4 que para uma reação ácido-base pode escrever-se a seguinte reação geral: doador de prótons $\rightleftharpoons$ $H^+$ + receptor de prótons. Para as reações redox pode-se escrever uma reação geral semelhante: doador de elétrons $\rightleftharpoons$ $e^-$ + receptor de elétrons. Na meia-reação reversível (1) descrita acima, $Fe^{2+}$ é o doador de elétrons enquanto $Fe^{3+}$ é o receptor; juntos, $Fe^{2+}$ e $Fe^{3+}$ constituem um **par redox conjugado**.

As transferências de elétrons nas reações de oxidação-redução envolvendo compostos orgânicos não são fundamentalmente diferentes das que ocorrem com espécies inorgânicas. No Capítulo 9 foi apresentada a oxidação de um açúcar redutor (um aldeído ou cetona) pelo íon cúprico (veja Fig. 9-10a):

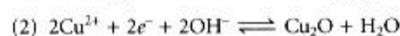


$$R{-}CHO + 4OH^- + 2Cu^{2+} \rightleftharpoons R{-}COOH + Cu_2O + 2H_2O$$

A reação total pode ser expressa na forma de duas meias-reações:



$$(1)\ R{-}CHO + 2OH^- \rightleftharpoons R{-}COOH + 2e^- + H_2O$$



$$(2)\ 2Cu^{2+} + 2e^- + 2OH^- \rightleftharpoons Cu_2O + H_2O$$

Como dois elétrons são removidos do carbono aldeído, a segunda meia-reação (a redução por um elétron do íon cúprico a cuproso) deve ser multiplicada por dois no balanceamento da equação total.

### As oxidações biológicas freqüentemente envolvem desidrogenação

Nas células vivas, o carbono encontra-se em diferentes estados de oxidação (Fig. 14-13). Quando o átomo de carbono compartilha um par de elétrons com um outro átomo (tipicamente H, C, S, N ou O), o compartilhamento é desigual em favor do átomo mais eletronegativo (relembre a ordem crescente de eletronegatividade apresentada na Tabela 3-2: $H < C < S < N < O$). De forma simplificada, porém útil, pode-se considerar que o átomo mais eletronegativo "apropria-se" dos elétrons compartilhados com um outro átomo. Por exemplo, no metano ($CH_4$), o carbono é mais eletronegativo do que os quatro átomos de hidrogênio ligados a ele, portanto o átomo de C "apropria-se" de todos os oito elétrons (Fig. 14-13). No etano, os elétrons na ligação C—C são compartilhados igualmente, de tal forma que cada átomo de C "apropria-se" somente de sete dos oito elétrons. No etanol, o C-1 é menos eletronegativo do que o oxigênio ao qual ele está ligado, e o átomo de O, portanto, "apropria-se" de ambos os elétrons da ligação C—O, deixando o C-1 com somente cinco elétrons da ligação. Juntamente com cada perda formal de elétrons, o átomo de carbono sofre oxidação, ainda quando o oxigênio não está envolvido, como no caso da conversão de um alcano ($CH_2$—$CH_2$) em um alceno (CH—CH). Nesse caso, a oxidação (perda de elétrons) coincide com a perda de hidrogênio. Nos sistemas biológicos, oxidação é freqüentemente sinônimo de **desidrogenação** e muitas das enzimas que catalisam reações de oxidação são **desidrogenases**. Note que os compostos mais reduzidos na Figura 14-13 (no topo) são mais ricos em hidrogênio do que em oxigênio, enquanto os compostos mais oxidados (na base) possuem mais oxigênio do que hidrogênio.

Nem todas as reações de oxidação-redução biológicas envolvem carbono. Por exemplo, na conversão de nitrogênio molecular em amônia, $6H^+ + 6e^- + N_2 \rightarrow 2NH_3$, os átomos que sofrem redução são os de nitrogênio.

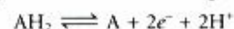
Os elétrons são transferidos de uma molécula (doadora de elétrons) para outra, por meio de uma das quatro formas a seguir:

1. Diretamente como *elétrons*. Por exemplo, o par redox $Fe^{2+}/Fe^{3+}$ pode transferir um elétron para o par redox $Cu^+/Cu^{2+}$:



$$Fe^{2+} + Cu^{2+} \rightleftharpoons Fe^{3+} + Cu^{+}$$

2. Como *átomos de hidrogênio*. Lembre-se de que um átomo de hidrogênio consiste de um próton ($H^+$) e um único elétron ($e^-$). Nesse caso, pode-se escrever a seguinte equação geral:



$$AH_2 \rightleftharpoons A + 2e^- + 2H^+$$

onde $AH_2$ é o doador de hidrogênio/elétrons (não confunda essa reação com a dissociação de um ácido, uma vez que o $H^+$ tem origem na remoção do átomo de hidrogênio, ou seja, $H^+ + e^-$). $AH_2$ e A constituem um par redox conjugado ($A/AH_2$), que pode reduzir um outro composto B (ou par redox, $B/BH_2$) pela transferência de átomos de hidrogênio:



$$AH_2 + B \rightleftharpoons A + BH_2$$

3. Como *íon hidreto* (:$H^-$), que possui dois elétrons. Isso ocorre no caso das desidrogenases ligadas a NAD, descritas a seguir.
4. Por *combinação* direta *com o oxigênio*. Nesse caso, o oxigênio combina-se com um redutor orgânico, sendo covalentemente incorporado ao produto, como no caso da oxidação de um hidrocarboneto a um álcool:



$$R{-}CH_3 + \tfrac{1}{2}O_2 \longrightarrow R{-}CH_2{-}OH$$

O hidrocarboneto é o doador de elétrons, enquanto o átomo de oxigênio é o receptor.

| | |
|---|---|
| Metano | 8 |
| Etano (alcano) | 7 |
| Eteno (alceno) | 6 |
| Etanol (álcool) | 5 |
| Acetileno (alcino) | 5 |
| Formaldeído | 4 |
| Acetaldeído (aldeído) | 3 |
| Acetona (cetona) | 2 |
| Ácido fórmico (ácido carboxílico) | 2 |
| Monóxido de carbono | 2 |
| Ácido acético (ácido carboxílico) | 1 |
| Dióxido de carbono | 0 |

**Figura 14-13 – Estados de oxidação do carbono presentes na biosfera.** Os estados de oxidação são ilustrados com alguns compostos representativos. Concentre-se no átomo de carbono em vermelho e seus elétrons ligantes. Quando esse carbono se liga a um átomo de H menos eletronegativo, ambos os elétrons ligantes (em vermelho) são cedidos ao carbono. Quando o carbono é ligado a um outro carbono, os elétrons ligantes são compartilhados igualmente, de tal forma que um dos dois elétrons é cedido ao carbono em vermelho. Quando o carbono em vermelho é ligado ao átomo de O mais eletronegativo, os elétrons ligantes são cedidos ao oxigênio. O número à direita de cada composto é o número de elétrons "apropriado" pelo carbono em vermelho, uma expressão do seu estado de oxidação. Quando o carbono em vermelho sofre oxidação (perde elétrons), o número torna-se menor. Assim, a ordem crescente para o estado de oxidação é: alcano < alceno < álcool < alcino < aldeído < cetona < ácido carboxílico < dióxido de carbono.

Nas células ocorrem todos os quatro tipos de transferência de elétrons. O termo **equivalente redutor** é geralmente utilizado para designar um único equivalente eletrônico que participa de uma reação de oxidação-redução, independentemente de esse equivalente estar na forma de elétron, átomo de hidrogênio ou íon hidreto, ou, ainda, se a transferência de elétrons ocorre em uma reação com oxigênio liberando um produto oxigenado. Como as moléculas combustíveis biológicas geralmente sofrem desidrogenação enzimática perdendo *dois* equivalentes redutores de uma vez, e como cada átomo de oxigênio recebe dois equivalentes redutores, os bioquímicos, por convenção, referem-se à unidade de oxidação biológica como dois equivalentes redutores que se transferem do substrato para o oxigênio.

## Os potenciais de redução medem a afinidade por elétrons

Quando dois pares redox conjugados estão presentes conjuntamente em solução, a transferência de elétrons do doador de um par para o receptor de elétrons do outro par pode ocorrer espontaneamente. A tendência para que a reação ocorra depende da afinidade relativa do receptor de elétrons de cada par redox. O **potencial de redução padrão, $E°$**, uma medida (em volts) dessa afinidade, pode ser determinado por experimento semelhante ao descrito na Figura 14-14. Os eletroquímicos escolheram como padrão de referência a seguinte meia-reação:



$$H^+ + e^- \longrightarrow \tfrac{1}{2}H_2$$

Ao elétrodo no qual essa meia-reação ocorre (denominado meia-célula), é atribuído, arbitrariamente, um potencial de redução padrão de 0,00V. Quando esse elétrodo de hidrogênio é conectado por meio de um circuito externo a outra meia-célula em que uma espécie oxidada e sua espécie reduzida correspondente estão presentes em concentrações-padrão (cada soluto em concentração 1M e cada gás sob pressão de 101,3kPa ou 1 atm), os elétrons tenderão a fluir por meio do circuito externo, da meia-célula com menor potencial de redução padrão para a meia-célula com maior potencial de redução padrão. Por convenção, à meia-célula com maior tendência para adquirir elétrons é atribuído um valor positivo para $E°$.

O potencial de redução de uma meia-célula depende não somente das espécies químicas presentes, mas também de suas atividades, cujos valores são comparáveis aos de suas concentrações. Há aproximadamente um século, Walther Nernst deduziu uma equação que relaciona o potencial de redução padrão ($E°$) ao potencial de redução ($E$) para quaisquer concentrações de espécies oxidadas e reduzidas na célula:

$$E = E° + \frac{RT}{n\mathcal{F}} \ln \frac{[\text{receptor de elétrons}]}{[\text{doador de elétrons}]} \quad (14\text{-}4)$$

onde os valores de $R$ e $T$ são os já descritos, $n$ corresponde ao número de elétrons transferidos por molécula e $\mathcal{F}$ é a constante de Faraday (Tabela 14-1). Para 298K (25°C), essa expressão é reduzida a:

$$E = E° + \frac{0{,}026\text{V}}{n} \ln \frac{[\text{receptor de elétrons}]}{[\text{doador de elétrons}]} \quad (14\text{-}5)$$

Muitas meias-reações de interesse bioquímico envolvem prótons. Como na definição de $\Delta G'°$, os bioquímicos definem o estado padrão para reações de oxidação-redução como pH 7,0 e expressam potencial de redução como $E'°$ o potencial de redução padrão em pH 7,0. Os potenciais de redução padrão apresentados na Tabela 14-7 e utilizados neste livro são valores de $E'°$, sendo válidos portanto somente para sistemas em pH neutro. Cada valor representa a diferença de potencial quando o par redox conjugado, em concentrações 1M e pH 7,0, é conectado

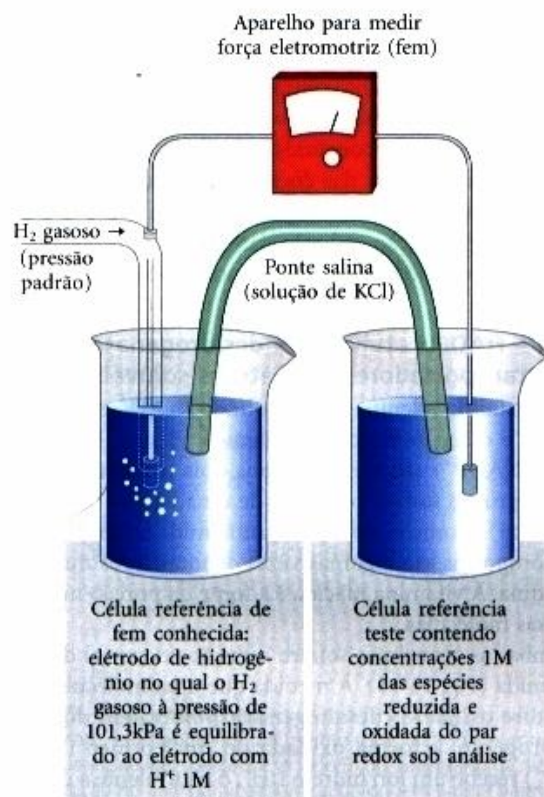



**Figura 14-14 – Medida do potencial de redução padrão ($E'^o$) de um par redox.** Os elétrons fluem do elétrodo teste para o elétrodo de referência, ou vice-versa. A meia-célula de referência final é o elétrodo de hidrogênio, conforme mostrado nesta figura. O valor de 0,00V é atribuído à força eletromotiva (fem) desse elétrodo. Em pH 7,0, o valor de $E'^o$ para o elétrodo de hidrogênio é –0,414V. O sentido do fluxo dos elétrons depende da sua "pressão" relativa ou do potencial das duas células. Uma ponte salina contendo solução de KCl saturado fornece um caminho para a movimentação dos íons entre a célula teste e a de referência. A partir da fem encontrada e conhecendo-se a fem da célula de referência, é possível determinar a fem da célula teste contendo o par redox em análise. A célula que recebe elétrons apresenta, por convenção, o potencial de redução mais positivo.

**Tabela 14-7 – Potenciais de redução padrão de algumas meias-reações biologicamente importantes a 25°C, em pH 7,0**

| Meia-reação | $E'^o$ (V) |
|---|---|
| $\frac{1}{2}O_2 + 2H^+ + 2e^- \longrightarrow H_2O$ | 0,816 |
| $Fe^{3+} + e^- \longrightarrow Fe^{2+}$ | 0,771 |
| $NO_3^- + 2H^+ + 2e^- \longrightarrow NO_2^- + H_2O$ | 0,421 |
| Citocromo *f* ($Fe^{3+}$) + $e^-$ ⟶ citocromo *f* ($Fe^{2+}$) | 0,365 |
| $Fe(CN)_6^{3-}$ (ferricianeto) + $e^-$ ⟶ $Fe(CN)_6^{4-}$ | 0,36 |
| Citocromo $a_3$ ($Fe^{3+}$) + $e^-$ ⟶ citocromo $a_3$ ($Fe^{2+}$) | 0,35 |
| $O_2 + 2H^+ + 2e^- \longrightarrow H_2O_2$ | 0,295 |
| Citocromo *a* ($Fe^{3+}$) + $e^-$ ⟶ citocromo *a* ($Fe^{2+}$) | 0,29 |
| Citocromo *c* ($Fe^{3+}$) + $e^-$ ⟶ citocromo *c* ($Fe^{2+}$) | 0,254 |
| Citocromo $c_1$ ($Fe^{3+}$) + $e^-$ ⟶ citocromo $c_1$ ($Fe^{2+}$) | 0,22 |
| Citocromo *b* ($Fe^{3+}$) + $e^-$ ⟶ citocromo *b* ($Fe^{2+}$) | 0,077 |
| Ubiquinona + $2H^+$ + $2e^-$ ⟶ ubiquinol + $H_2$ | 0,045 |
| Fumarato$^{2-}$ + $2H^+$ + $2e^-$ ⟶ succinato$^{2-}$ | 0,031 |
| $2H^+ + 2e^- \longrightarrow H_2$ (nas condições-padrão, pH 0) | 0,000 |
| Crotonil-CoA + $2H^+$ + $2e^-$ ⟶ butiril-CoA | –0,015 |
| Oxaloacetato$^{2-}$ + $2H^+$ + $2e^-$ ⟶ malato$^{2-}$ | –0,166 |
| Piruvato$^-$ + $2H^+$ + $2e^-$ ⟶ lactato$^-$ | –0,185 |
| Acetaldeído + $2H^+$ + $2e^-$ ⟶ etanol | –0,197 |
| FAD + $2H^+$ + $2e^-$ ⟶ $FADH_2$ | –0,219* |
| Glutationa + $2H^+$ + $2e^-$ ⟶ 2 glutationa reduzida | –0,23 |
| $S + 2H^+ + 2e^- \longrightarrow H_2S$ | –0,243 |
| Ácido lipóico + $2H^+$ + $2e^-$ ⟶ ácido diidrolipóico | –0,29 |
| $NAD^+ + H^+ + 2e^- \longrightarrow NADH$ | –0,320 |
| $NADP^+ + H^+ + 2e^- \longrightarrow NADPH$ | –0,324 |
| Acetoacetato + $2H^+$ + $2e^-$ ⟶ β-hidroxibutirato | –0,346 |
| α-Cetoglutarato + $CO_2$ + $2H^+$ + $2e^-$ ⟶ isocitrato | –0,38 |
| $2H^+ + 2e^- \longrightarrow H_2$ (em pH 7,0) | –0,414 |
| Ferredoxina ($Fe^{3+}$) + $e^-$ ⟶ ferredoxina ($Fe^{2+}$) | –0,432 |

Dados extraídos em sua maior parte de Loach PA. (1976) In *Handbook of Biochemistry and Molecular Biology*, 3rd edn (Fasman GD, ed), *Physical and Chemical Data*, Vol. I, pp. 122-130, CRC Press, Boca Raton, FL.

*Este valor é para o FAD livre. FAD ligado a uma flavoproteína específica (por exemplo, succinato desidrogenase) apresenta $E'^o$ diferente.

com o elétrodo de hidrogênio padrão (pH 0). Observe na Tabela 14-7 que, quando o par conjugado $2H^+/H_2$ em pH 7,0 é conectado com o elétrodo de hidrogênio padrão (pH 0), os elétrons tendem a fluir da célula em pH 7,0 para a célula-padrão (pH 0); o valor de $E'^o$ medido para o par $2H^+/H_2$ é –0,414V.

## Os potenciais de redução padrão podem ser utilizados para calcular a variação de energia livre

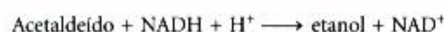
Os potenciais de redução são parâmetros úteis uma vez que a determinação do valor correspondente a uma de duas meias-células em relação ao elétrodo de hidrogênio padrão possibilita conhecer o valor em relação à outra meia-célula. Pode-se assim predizer o sentido no qual os elétrons tenderão a fluir quando as duas meias-células estiverem conectadas por meio de um circuito externo, ou ainda quando os componentes de ambas as meias-células estiverem presentes na mesma solução. Os elétrons tendem a fluir para a meia-célula com o valor de $E$ mais positivo, sendo essa tendência proporcional à diferença nos potenciais de redução, $\Delta E$.

A energia que se torna disponível por meio desse fluxo espontâneo de elétrons (a variação de energia livre para a reação de oxidação-redução) é proporcional a $\Delta E$:

$$\Delta G = -n\mathcal{F}\,\Delta E \quad \text{ou} \quad \Delta G'^o = -n\mathcal{F}\,\Delta E'^o \qquad (14\text{-}6)$$

Neste caso, $n$ representa o número de elétrons transferidos na reação. Com esta equação é possível calcular a variação da energia livre para qualquer reação de oxidação-redução, a partir dos valores de $E'^o$ (veja Tabela 14-7) e das concentrações das espécies envolvidas na reação.

Considere a reação na qual o acetaldeído é reduzido pelo transportador biológico de elétrons NADH:



$$\text{Acetaldeído} + NADH + H^+ \longrightarrow \text{etanol} + NAD^+$$

As meias-reações envolvidas e seus valores de $E'^o$ são:

(1) Acetaldeído + $2H^+$ + $2e^-$ ⟶ etanol $\quad E'^o = -0{,}197V$

(2) $NAD^+ + 2H^+ + 2e^- \longrightarrow NADH + H^+ \quad E'^o = -0{,}320V$

Por convenção, $\Delta E'^o$ é expresso como $E'^o$ do receptor de elétrons menos $E'^o$ do doador de elétrons. Pelo fato de o acetaldeído receber elétrons do NADH, neste exemplo, $\Delta E'^o = -0{,}197V - (-0{,}320V) = 0{,}123V$, e $n = 2$. Portanto,

$$\Delta G'^o = -n\mathcal{F}\,\Delta E'^o = -2(96{,}5kJ/V \cdot mol)(0{,}123V) = -23{,}7kJ/mol$$

Esta é a variação de energia livre para a reação de oxidação-redução em pH 7,0 quando acetaldeído, etanol, $NAD^+$ e NADH estão presentes em concentrações iguais a 1M. Caso as concentrações de acetaldeído e NADH forem 1M, mas as de etanol e

NAD⁺ forem 0,1M, o valor de $\Delta G$ pode ser calculado como segue. Primeiro, são determinados os valores de $E$ para ambos os redutores (Eq. 14-4):

$$E_{acetaldeído} = E'^{o} + \frac{RT}{n\mathcal{F}} \ln \frac{[acetaldeído]}{[etanol]}$$
$$= -0{,}197V + \frac{0{,}026V}{2} \ln \frac{1{,}0}{0{,}1} = -0{,}167V$$
$$E_{NADH} = E'^{o} + \frac{RT}{n\mathcal{F}} \ln \frac{[NAD^+]}{[NADH]}$$
$$= -0{,}320V + \frac{0{,}026V}{2} \ln \frac{0{,}1}{1{,}0} = -0{,}350V$$

$\Delta E$ é então utilizado para calcular $\Delta G$ (Eq. 14-5):

$$\Delta E = -0{,}167V - (-0{,}350)V = 0{,}183V$$
$$\Delta G = -n\mathcal{F}\,\Delta E$$
$$= -2(96{,}5kJ/Vmol)(0{,}183V)$$
$$= -35{,}3kJ/mol$$

Assim, é possível calcular a variação de energia livre para qualquer reação redox biológica e em quaisquer concentrações dos pares redox.

## A oxidação celular da glicose a dióxido de carbono requer transportadores de elétrons especializados

Os princípios da energética de oxidação-redução descritos anteriormente se aplicam a um grande número de reações metabólicas que envolvem transferência de elétrons. Por exemplo, em muitos organismos, a oxidação da glicose fornece energia para a produção de ATP. A oxidação completa da glicose:



$$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \longrightarrow 6CO_2 + 6H_2O$$

apresenta $\Delta G'^{o}$ igual a −2,840kJ/mol. Este valor indica uma liberação de energia livre muito maior do que a energia que é necessária para a síntese do ATP (50 a 60kJ/mol; veja Adendo 14-2). As células não convertem glicose em $CO_2$ por meio de uma única reação com grande liberação de energia, mas sim por meio de uma série de reações controladas, algumas delas, reações de oxidação. A energia livre liberada nessas etapas de oxidação é da mesma ordem de grandeza da energia que é necessária para a síntese de ATP a partir de ADP, com uma fração excedente. Os elétrons removidos nessas etapas de oxidação são transferidos para coenzimas especializadas em transportar elétrons, tais como o NAD⁺ e o FAD, apresentados a seguir.

## Poucos tipos de coenzimas e proteínas atuam como transportadores universais de elétrons

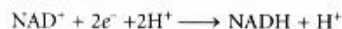
O grande número de enzimas que catalisam as oxidações celulares direcionam os elétrons removidos de centenas de diferentes substratos a apenas alguns poucos tipos de transportadores universais de elétrons. A redução desses transportadores nos processos catabólicos é responsável pela conservação da energia livre liberada pela oxidação dos substratos. Os nucleotídeos NAD⁺, NADP⁺, FMN e FAD são coenzimas hidrossolúveis que sofrem oxidações e reduções reversíveis em muitas das reações metabólicas de transferência de elétrons. Os nucleotídeos NAD⁺ e NADP⁺ movem-se facilmente de uma enzima para outra, enquanto os nucleotídeos de flavina FMN e FAD encontram-se fortemente ligados às enzimas, denominadas flavoproteínas, atuando como grupos prostéticos. Quinonas solúveis em lipídios, tais como ubiquinona e plastoquinona, atuam como carreadores de elétrons e doadores de prótons no meio não aquoso das membranas. Proteínas ferro-enxofre e citocromos, que possuem grupos prostéticos fortemente ligados, capazes de sofrer oxidação e redução reversíveis, também atuam como carreadores de elétrons em diversas reações de oxidação-redução. Algumas dessas proteínas são solúveis em água, enquanto outras se encontram na periferia das membranas ou nelas inseridas (veja Fig. 12-11).

Este capítulo será concluído com a descrição de algumas características químicas das coenzimas nucleotídeo e de algumas enzimas (desidrogenases e flavoproteínas) que as utilizam. A química de oxidação-redução das quinonas, proteínas ferro-enxofre e citocromos será discutida no Capítulo 19.

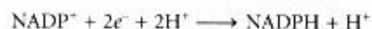
## NADH e NADPH atuam com desidrogenases como transportadores de elétrons solúveis

A nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD⁺ em sua forma oxidada) e o seu análogo nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADP⁺) são formados por dois nucleotídeos ligados por seus grupos fosfato por meio de uma ligação fosfoanidrido (Fig. 14-15). Como o anel de nicotinamida lembra a piridina, esses compostos são algumas vezes denominados nucleotídeos de piridina. A vitamina niacina é a fonte da porção nicotinamida nessas moléculas.

Ambas as coenzimas sofrem redução reversível do anel nicotinamida (Fig. 14-15). À medida que uma molécula de substrato sofre oxidação (desidrogenação), liberando dois átomos de hidrogênio, a forma oxidada do nucleotídeo (NAD⁺ ou NADP⁺) recebe um íon hidreto (:H⁻, o equivalente a um próton e dois elétrons), sendo transformada na sua forma reduzida (NADH ou NADPH). O segundo próton removido do substrato é liberado no solvente aquoso. A meia-reação para cada tipo de nucleotídeo é, portanto:



$$NAD^+ + 2e^- + 2H^+ \longrightarrow NADH + H^+$$



$$NADP^+ + 2e^- + 2H^+ \longrightarrow NADPH + H^+$$

A redução do NAD⁺ ou NADP⁺ converte o anel benzenóide da porção nicotinamida (com uma carga positiva fixada no anel de nitrogênio) à forma quinonóide (nitrogênio sem carga). Observe que os nucleotídeos reduzidos, mas não os oxidados, absorvem luz em 340nm (Fig. 14-15b). O sinal de adição nas abreviações de NAD⁺ e NADP⁺ *não* indica a carga líquida dessas moléculas (ambas são carregadas negativamente), mas sim que o anel nicotinamida se encontra em sua forma oxidada, com uma carga positiva no átomo de nitrogênio. Nas abreviações NADH e NADPH, o "H" indica o íon hidreto adicionado. Para referir-se a esses nucleotídeos sem especificar os seus estados de oxidação, são utilizadas as abreviações NAD e NADP.

Na maioria dos tecidos, a concentração total de NAD⁺ + NADH é em torno de $10^{-5}$M, enquanto a de NADP⁺ + NADPH é aproximadamente dez vezes inferior. Em muitas células e tecidos, a razão NAD⁺ (oxidado)/NADH (reduzido) é elevada, favorecendo assim a transferência do íon hidreto de um substrato *para* o NAD⁺ formando NADH. Por outro lado, o NADPH (reduzido) geralmente se encontra presente em quantidades superiores às de sua forma oxidada, o NADP⁺, favorecendo a transferência do íon hidreto *do* NADPH para o substrato. Isso reflete as funções metabólicas especializadas das duas coenzimas, ou seja, o NAD⁺ atua em oxidações, geralmente associadas a processos catabólicos, enquanto o NADPH é utilizado em reduções, geralmente associadas a processos anabólicos. Poucas enzimas conseguem utilizar ambas as coenzimas; a maioria delas revela uma forte preferência por uma em relação à outra. Essa especialização funcional possibilita que a célula mantenha dois conjuntos distintos de transportadores de elétrons, com duas funções também distintas, presentes no mesmo compartimento celular.

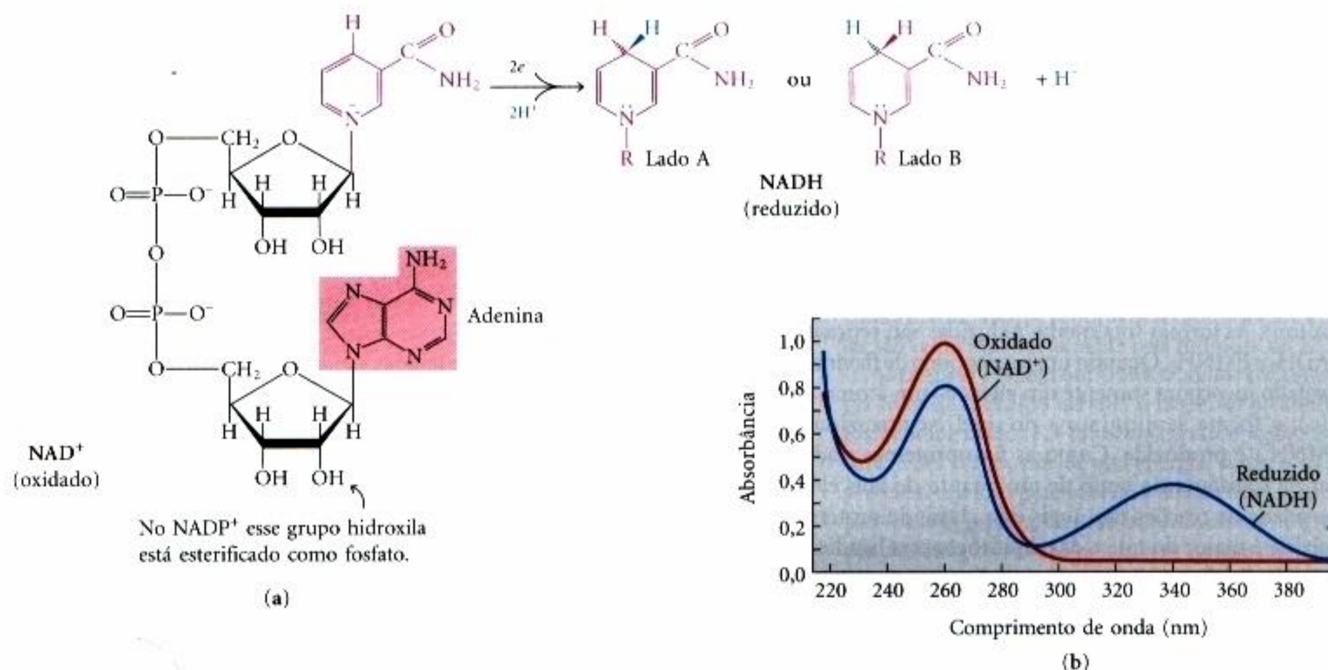
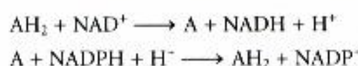


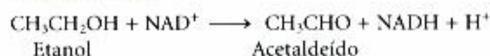

**Figura 14-15 – NAD e NADP.** (**a**) A nicotinamida adenina dinucleotídeo ($NAD^+$) e seu análogo fosforilado, $NADP^+$, sofrem redução a NADH e NADPH, respectivamente, recebendo um íon hidreto (dois elétrons e um próton) de um substrato oxidável. O íon hidreto é adicionado tanto ao lado anterior (o lado A) quanto ao lado posterior (o lado B) do anel plano da nicotinamida (veja Tabela 14-8). (**b**) O espectro de absorção de $NAD^+$ e NADH na região do UV. A redução do anel da nicotinamida dá origem a uma banda de absorção de luz ampla, com pico em 340nm. A geração de NADH durante uma reação enzimática pode ser monitorada pelo aparecimento dessa banda; $\varepsilon_{340} = 6.200 M^{-1}cm^{-1}$.

São conhecidas mais de 200 enzimas que catalisam reações nas quais $NAD^+$ (ou $NADP^+$) incorpora um íon hidreto a partir de um substrato reduzido, ou NADPH (ou NADH) doa um íon hidreto para um substrato oxidado. As reações gerais são



$$AH_2 + NAD^+ \longrightarrow A + NADH + H^+$$
$$A + NADPH + H^+ \longrightarrow AH_2 + NADP^+$$

onde $AH_2$ é o substrato reduzido, e A, o substrato oxidado. Enzimas desse tipo constituem as **oxidorredutases**, também denominadas **desidrogenases**. Por exemplo, a álcool desidrogenase catalisa a primeira etapa no catabolismo do etanol, na qual ele é oxidado a acetaldeído:

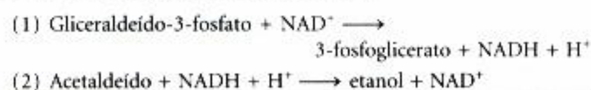


$$\underset{\text{Etanol}}{CH_3CH_2OH} + NAD^+ \longrightarrow \underset{\text{Acetaldeído}}{CH_3CHO} + NADH + H^+$$

Observe que um dos átomos de carbono no etanol perde um hidrogênio, sendo o composto oxidado a aldeído (Fig. 14-13).

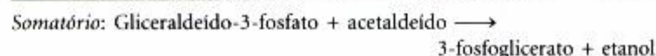
Na redução do $NAD^+$ (ou $NADP^+$), o íon hidreto poderia, em princípio, ser transferido para qualquer um dos lados do anel da nicotinamida: o lado anterior (A) ou o lado posterior (B), conforme representado na Figura 14-15. Estudos com substratos marcados isotopicamente demonstraram que as enzimas podem catalisar transferências do tipo A ou do tipo B, mas nunca ambas. Por exemplo, a álcool desidrogenase de levedura e a lactato desidrogenase de coração de vertebrados transferem um íon hidreto para o (ou removem um íon hidreto do) lado A do anel da nicotinamida, sendo, portanto, classificadas como desidrogenases do tipo A, distinguindo-se de um outro grupo de enzimas que transferem um íon hidreto para o (ou removem um íon hidreto do) lado B do anel da nicotinamida (Tabela 14-8).

A interação entre desidrogenase e NAD ou NADP é relativamente fraca, de tal forma que a coenzima se difunde facilmente de uma enzima para outra, atuando como um transportador hidrossolúvel de elétrons de um metabólito para outro. Por exemplo, na produção de álcool por fermentação da glicose por células de levedura, um íon hidreto é removido do gliceraldeído-3-fosfato pela gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase, uma enzima do tipo B, e transferido para o $NAD^+$. O NADH assim formado abandona a superfície da enzima difundindo-se para a álcool desidrogenase, uma enzima do tipo A, que transfere o íon hidreto para o acetaldeído, produzindo etanol:



(1) Gliceraldeído-3-fosfato + $NAD^+ \longrightarrow$ 3-fosfoglicerato + NADH + $H^+$

(2) Acetaldeído + NADH + $H^+ \longrightarrow$ etanol + $NAD^+$



*Somatório*: Gliceraldeído-3-fosfato + acetaldeído $\longrightarrow$ 3-fosfoglicerato + etanol

Observe que na reação total não há produção ou consumo líquido de $NAD^+$ ou NADH; as coenzimas funcionam cataliticamente, sendo repetidamente recicladas sem que o somatório de suas concentrações ($NAD^+$ + NADH) sofra alteração.

**Tabela 14-8 – Estereoespecificidade das desidrogenases que utilizam $NAD^+$ ou $NADP^+$ como coenzimas**

| Enzima | Coenzima | Especificidade estereoquímica para o anel da nicotinamida (A ou B) |
|---|---|---|
| Isocitrato desidrogenase | $NAD^+$ | A |
| α-Cetoglutarato desidrogenase | $NAD^+$ | B |
| Glicose-6-fosfato desidrogenase | $NADP^+$ | B |
| Malato desidrogenase | $NAD^+$ | A |
| Glutamato desidrogenase | $NAD^+$ ou $NADP^+$ | B |
| Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase | $NAD^+$ | B |
| Lactato desidrogenase | $NAD^+$ | A |
| Álcool desidrogenase | $NAD^+$ | A |

## Nucleotídeos de flavina são fortemente ligados a flavoproteínas

As flavoproteínas (Tabela 14-9) são enzimas que catalisam reações de oxidação-redução utilizando tanto flavina mononucleotídeo (FMN) quanto flavina adenina dinucleotídeo (FAD) como coenzimas (Fig. 14-16). Essas coenzimas são derivadas da vitamina riboflavina. A estrutura em anel fundido dos nucleotídeos de flavina (o anel isoaloxazina) sofre redução reversível, incorporando a partir de um substrato reduzido um ou dois elétrons na forma de um ou dois átomos de hidrogênio (1 elétron + 1 próton). As formas totalmente reduzidas são representadas por $FADH_2$ e $FMNH_2$. Quando um nucleotídeo de flavina totalmente oxidado incorpora somente um elétron (um átomo de hidrogênio), a forma semiquinona do anel isoaloxazina ($FADH^{\bullet}$ e $FMNH^{\bullet}$) é produzida. Como as flavoproteínas podem participar da transferência tanto de um quanto de dois elétrons, a diversidade de reações nas quais essa classe de proteínas está envolvida é maior do que a das desidrogenases ligadas a nucleotídeos de piridina.

**Tabela 14-9 – Algumas enzimas (flavoproteínas) que utilizam coenzimas flavina nucleotídeo**

| Enzima | Flavina nucleotídeo |
|---|---|
| Acil-CoA graxo desidrogenase | FAD |
| Diidrolipoil desidrogenase | FAD |
| Succinato desidrogenase | FAD |
| Glicerol-3-fosfato desidrogenase | FAD |
| Tioredoxina redutase | FAD |
| NADH desidrogenase (complexo I) | FMN |
| Glicolato desidrogenase | FMN |

Assim como as coenzimas de nicotinamida (Fig. 14-15), a redução dos nucleotídeos de flavina é acompanhada por um deslocamento na sua principal faixa de absorção de luz. Assim, as flavoproteínas oxidadas geralmente apresentam um pico de absorção máxima em comprimentos de onda próximos a 570nm; quando reduzidas, esse pico é deslocado para aproximadamente 450nm. Essa característica pode ser útil no monitoramento de reações envolvendo uma flavoproteína.

Na maioria das flavoproteínas, o nucleotídeo de flavina encontra-se fortemente ligado à proteína e, em algumas enzimas como a succinato desidrogenase, a ligação é covalente. Essas coenzimas fortemente ligadas são apropriadamente denominadas grupos prostéticos. Elas não transferem elétrons difundindo-se de uma enzima para outra, mas sim favorecem a retenção temporária dos elétrons pelas flavoproteínas enquanto a transferência deles de um substrato reduzido para um receptor de elétrons é catalisada. Uma característica importante das flavoproteínas é a variabilidade no potencial de redução padrão ($E'^{o}$) do nucleotídeo de flavina ligado a elas. A forte interação entre a enzima e o grupo prostético confere ao anel de flavina potenciais de redução diferenciados em função de cada flavoproteína específica, algumas vezes muito diferentes do potencial de redução do nucleotídeo de flavina livre. O FAD ligado à succinato desidrogenase, por exemplo, possui $E'^{o}$ próximo a 0,0V, enquanto o FAD livre possui $E'^{o}$ igual a –0,219V. As flavoproteínas são, em geral, muito complexas; algumas possuem, além do nucleotídeo de flavina, íons inorgânicos fortemente ligados (ferro ou molibdênio, por exemplo) com uma participação efetiva na transferência dos elétrons.

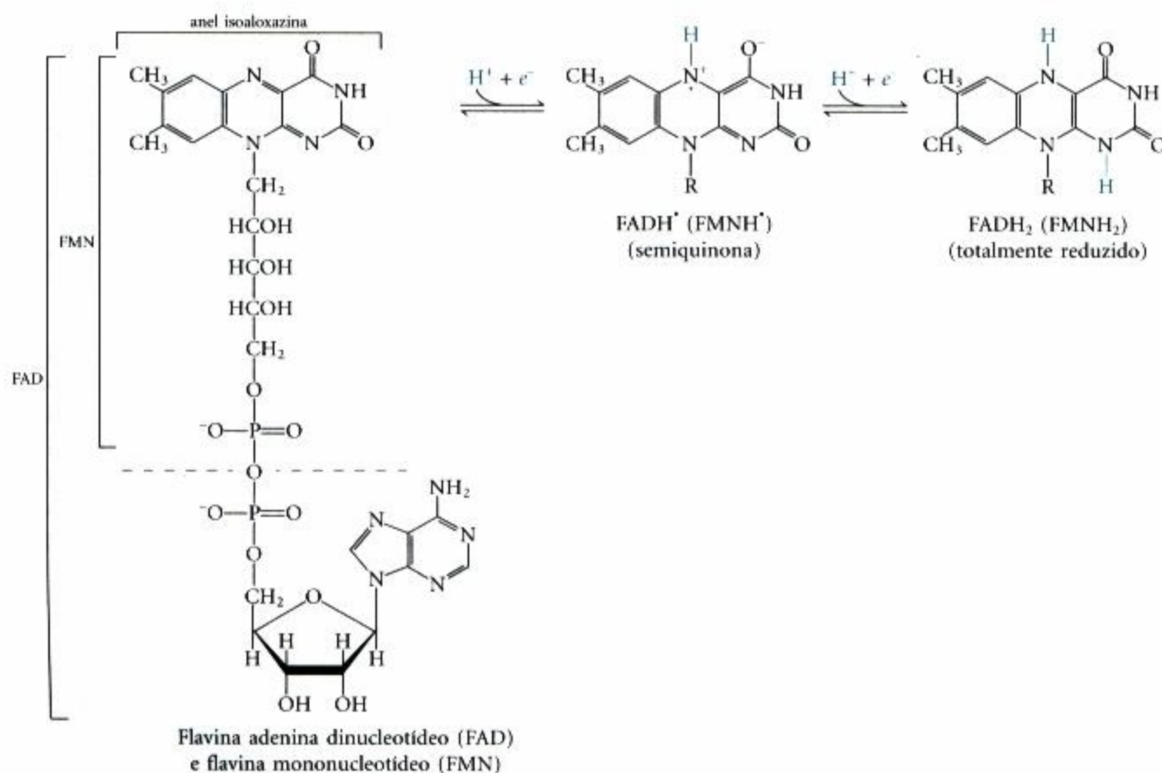



**Figura 14-16 – Estruturas das formas oxidada e reduzida de FAD e FMN.** Esta figura mostra a estrutura do FAD (oxidado), cuja parte superior à linha tracejada corresponde ao FMN. Os nucleotídeos de flavina recebem dois átomos de hidrogênio (dois elétrons e dois prótons); ambos aparecem no sistema em anel da flavina. Quando FAD e FMN recebem apenas um átomo de hidrogênio, forma-se a semiquinona, um radical livre estável.

## Resumo

As células vivas constantemente realizam trabalho, necessitando de energia para a manutenção de estruturas altamente organizadas, síntese de componentes celulares, realização de movimento, geração de correntes elétricas e produção de luz, além de uma variedade de outros processos. Bioenergética é o estudo quantitativo da relação de energia e sua conversão nos sistemas biológicos. As transformações de energia biológica obedecem às leis da termodinâmica. Todas as reações químicas são influenciadas por duas forças: a tendência para atingir o estado de ligação mais estável (para o qual a entalpia, $H$, é a expressão pertinente) e a tendência para atingir o mais elevado grau de desordem, expresso como entropia, $S$. A força propulsora da reação é a variação de energia livre, $\Delta G$, que resulta desses dois fatores: $\Delta G = \Delta H - T\,\Delta S$. As células necessitam de fontes de energia livre para realizar trabalho.

A variação de energia livre padrão, $\Delta G'^{\circ}$, é a constante física característica de uma determinada reação, podendo ser calculada a partir da constante de equilíbrio desta reação: $\Delta G'^{\circ} = -RT\ \ln K'_{eq}$. A variação de energia livre real, $\Delta G$, é uma variável dependente de $\Delta G'^{\circ}$, além das concentrações de reagentes e produtos: $\Delta G = \Delta G'^{\circ} + RT \ln$ ([produtos]/[reagentes]). Quando o valor de $\Delta G$ é alto e negativo, a reação tende a ocorrer no sentido direto; quando ele é alto e positivo, a reação tende a ocorrer no sentido inverso; quando $\Delta G = 0$, o sistema encontra-se em equilíbrio. A variação de energia livre para uma reação é independente da via pela qual ela ocorre. As variações de energia livre são aditivas. Assim, a reação química resultante de reações sucessivas que compartilham um intermediário comum apresenta variação de energia livre total correspondente ao somatório dos valores de $\Delta G$ das reações individuais.

O ATP estabelece a ligação química entre catabolismo e anabolismo, correspondendo à "moeda" de energia das células vivas. Sua conversão exergônica em ADP e $P_i$, ou em AMP e $PP_i$, está acoplada a um grande número de reações e processos endergônicos. Em geral, não é a hidrólise do ATP, mas sim a transferência de um grupo fosforil, pirofosforil ou adenilil do ATP para uma molécula de substrato ou enzima que acopla a energia da quebra do ATP a transformações endergônicas de substratos. Por meio dessas reações de transferência de grupo, o ATP fornece energia para as reações anabólicas, incluindo a síntese de moléculas informacionais, e para o transporte de moléculas e íons através de membranas, contra gradientes de concentração e de potencial elétrico. A contração muscular é uma das muitas exceções a essa generalização; as alterações conformacionais que produzem a contração muscular são induzidas diretamente pela hidrólise do ATP.

As células possuem outros metabólitos com energia livre de hidrólise elevada e negativa, incluindo fosfoenolpiruvato, 1,3-difosfoglicerato e fosfocreatina. Esses compostos de alta energia, como o ATP, possuem um alto potencial de transferência de grupos fosforil, ou seja, eles são bons doadores de grupos fosforil. Os tioésteres também apresentam alta energia livre de hidrólise.

As reações de oxidação-redução biológicas podem ser descritas em termos de duas meias-reações, cada uma delas com um potencial de redução característico, $E'^{\circ}$. Quando duas meias-células eletroquímicas, cada uma contendo os componentes de uma meia-reação, são conectadas, os elétrons tendem a fluir para a meia-célula com o maior potencial de redução. Essa tendência é proporcional à diferença entre os dois potenciais de redução ($\Delta E$), uma função das concentrações das espécies oxidadas e reduzidas. A variação de energia livre padrão para uma reação de oxidação-redução é diretamente proporcional à diferença nos potenciais de redução-padrão das duas meias-células: $\Delta G'^{\circ} = -n\mathcal{F}\ \Delta E'^{\circ}$.

Muitas reações de oxidação biológica são desidrogenações nas quais um ou dois átomos de hidrogênio (elétron + próton) são transferidos de um substrato para um receptor de hidrogênio. Reações de oxidação-redução nas células envolvem transportadores de elétrons especializados. NAD e NADP são as coenzimas livremente difusíveis de muitas desidrogenases. Tanto $NAD^+$ como $NADP^+$ recebem dois elétrons e um próton. Os nucleotídeos de flavina, FAD e FMN, atuam como grupos prostéticos fortemente ligados das flavoproteínas; eles podem receber um ou dois elétrons. Em muitos organismos, o processo central de conservação de energia é a oxidação gradual da glicose a $CO_2$. Parte da energia da oxidação é conservada na forma de ATP à medida que elétrons são transferidos ao $O_2$.

## Leitura Adicional

### Bioenergética e termodinâmica


**Atkins PW.** (1984) *The Second Law*, Scientific American Books, Inc., New York.

Uma discussão elementar e bem ilustrada da segunda lei e suas implicações.

**Becker WM.** (1977) *Energy and the Living Cell: An Introduction to Bioenergetics*, J.B. Lippincott Company, Philadelphia.

Uma clara consideração introdutória do metabolismo celular, em termos energéticos.

**Bergethon PR.** (1998) *The Physical Basis of Biochemistry*, Springer Verlag, New York.

Os capítulos 11 a 13 desse livro e os livros de Tinoco *et al.* e van Holde *et al.* (abaixo) são excelentes referências gerais para bioquímica física, apresentando uma boa análise das aplicações da termodinâmica à bioquímica.

**Edsall JT & Gutfreund H.** (1983) *Biothermodynamics: The Study of Biochemical Processes at Equilibrium*, John Wiley & Sons, Inc., New York.

**Harold FM.** (1986) *The Vital Force: A Study of Bioenergetics*, W.H. Freeman and Company, New York.

Uma bela e clara discussão sobre a termodinâmica nos processos biológicos.

**Harris DA.** (1995) *Bioenergetics at a Glance*, Blackwell Science, Oxford.

Uma consideração sobre energética celular, curta e claramente escrita, incluindo capítulos introdutórios sobre termodinâmica.

**Morowitz HJ.** (1978) *Foundations of Bioenergetics*, Academic Press, Inc., New York.

Uma clara e rigorosa descrição da termodinâmica na biologia. (fora de impressão)

**Tinoco I Jr, Sauer K, & Wang JC.** (1996) *Physical Chemistry: Principles and Applications in Biological Sciences*, 3rd edn, Prentice-Hall, Inc., Upper Saddle River, N.J.

Os capítulos 2 a 5 envolvem termodinâmica.

**Van Holde KE, Johnson WC, & Ho PS.** (1998) *Principles of Physical Biochemistry*. Prentice-Hall, Inc., Upper Saddle River, NJ.

Os capítulos 2 e 3 são especialmente relevantes.

### Transferência de grupos fosforil e ATP

**Alberty RA.** (1994) Biochemical thermodynamics. *Biochim. Biophys. Acta* **1207**, 1-11.

Explica a distinção entre equações bioquímicas e químicas, além do cálculo e significado das propriedades termodinâmicas transformadas para o ATP e outros compostos fosforilados.

**Bridger WA & Henderson JF.** (1983) *Cell ATP*, John Wiley & Sons, Inc., New York.

A química do ATP, além de suas funções catabólica, anabólica e regulatória.

**Frey PA & Arabshahi A.** (1995) Standard free-energy change for the hydrolysis of the α-β-phosphoanhydride bridge in ATP. *Biochemistry* **34**, 11.307-11.310.

**Hanson RW.** (1989) The role of ATP in metabolism. *Biochem. Educ.* **17**, 86-92.

Excelente resumo da química e biologia do ATP.

**Lipmann F.** (1941) Metabolic generation and utilization of phosphate bond energy. *Adv. Enzymol.* **11**, 99-162.

A descrição clássica da função dos compostos fosfato de alta energia em biologia.

**Pullman B & Pullman A.** (1960) Electronic structure of energy-rich phosphates. *Radiat. Res.* Suppl. 2, pp. 160-181.

Uma discussão avançada da química do ATP e de outros compostos "ricos em energia".

**Veech RL, Lawson JWR, Cornell NW, & Krebs HA.** (1979) Cytosolic phosphorylation potential. *J. Biol. Chem.* **254**, 6538-6547.

Determinação experimental das concentrações de ATP, ADP e $P_i$ no cérebro, músculo e fígado, além de discussão sobre as dificuldades para determinação das variações de energia livre reais para a síntese do ATP nas células.

**Westheimer FH.** (1987) Why nature chose phosphates. *Science* **235**, 1173-1178.

A descrição de um químico sobre a particular adaptação dos ésteres e anidridos de fosfato para as transformações metabólicas.

### Reações biológicas de oxidação-redução

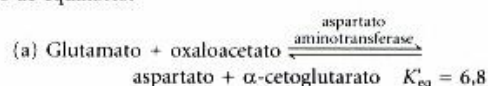
**Dolphin D, Avramovic O, & Poulson R (eds).** (1987) *Pyridine Nucleotide Coenzymes: Chemical, Biochemical, and Medical Aspects*, John Wiley & Sons, Inc., New York.

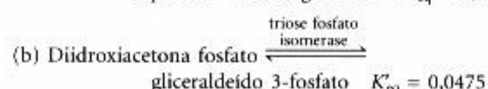
Uma excelente coleção em dois volumes de uma revisão autorizada. Entre os mais úteis estão os capítulos de Kaplan, Westheimer, Veech e Ohno e Ushio.

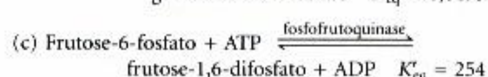
## Problemas

**1. Variações na entropia durante o desenvolvimento do ovo.** Considere um sistema compreendido por um ovo em uma incubadora. A gema e a clara do ovo contêm proteínas, carboidratos e lipídios. Uma vez fertilizado, o ovo evolui de uma única célula para um organismo complexo. Aborde esse processo irreversível em termos de variações na entropia em relação ao sistema, ao ambiente e ao universo. (É necessária uma definição clara dos conceitos de sistema e ambiente.)

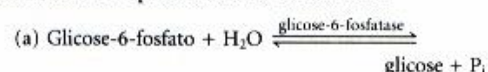
**2. Cálculo de $\Delta G'^{\circ}$ a partir das constantes de equilíbrio.** Calcule as variações de energia livre padrão para as seguintes reações metabolicamente importantes, catalisadas por enzimas a 25°C, pH 7,0, a partir de suas constantes de equilíbrio:



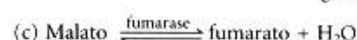




**3. Cálculo das constantes de equilíbrio a partir de $\Delta G'^{\circ}$.** Calcule as constantes de equilíbrio, $K'_{eq}$, para cada uma das seguintes reações em pH 7,0, a 25°C, utilizando os valores de $\Delta G'^{\circ}$ apresentados na Tabela 14-4:

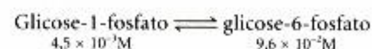






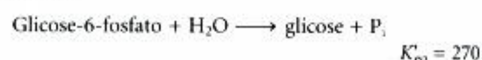


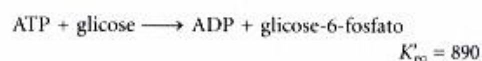

**4. Determinação experimental da $K'_{eq}$ e $\Delta G'^{\circ}$.** Se uma solução de glicose-1-fosfato 0,1M é incubada com uma quantidade catalítica de fosfoglicomutase, a glicose-1-fosfato é transformada em glicose-6-fosfato. No estado de equilíbrio, as concentrações dos componentes da reação são as seguintes:




Calcule a $K'_{eq}$ e $\Delta G'^{\circ}$ para esta reação a 25°C.

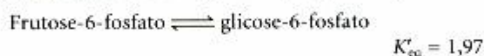
**5. Determinação experimental de $\Delta G'^{\circ}$ para a hidrólise do ATP.** A determinação direta da variação de energia livre padrão associada à hidrólise do ATP é dificultada devido à ínfima quantidade de ATP remanescente no estado de equilíbrio. Entretanto, o valor de $\Delta G'^{\circ}$ pode ser calculado indiretamente a partir das constantes de equilíbrio, menos favoráveis, de duas outras reações enzimáticas:




A partir dessas informações, calcule a energia livre padrão de hidrólise do ATP a 25°C.

**6. Diferença entre $\Delta G'^{\circ}$ e $\Delta G$.** Considere a seguinte interconversão que ocorre na glicólise (Capítulo 15):



$$\text{Frutose-6-fosfato} \rightleftharpoons \text{glicose-6-fosfato} \qquad K'_{eq} = 1{,}97$$

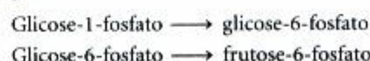
(a) Qual é o valor de $\Delta G'^{\circ}$ para a reação, assumindo-se que a temperatura é 25°C?

(b) Se a concentração de frutose-6-fosfato for ajustada para 1,5M e a de glicose-6-fosfato para 0,5M, qual será o valor de $\Delta G$?

(c) Por que $\Delta G'^{\circ}$ e $\Delta G$ são diferentes?

**7. Dependência de $\Delta G$ em relação ao pH.** Sob condições-padrão, em pH 7,0, a energia livre liberada pela hidrólise do ATP é –30,5kJ/mol. Se o ATP for hidrolisado sob condições-padrão, porém em pH 5,0, haverá maior ou menor liberação de energia livre? Por quê?

**8. O valor de $\Delta G'^{\circ}$ para reações acopladas.** A glicose-1-fosfato é convertida em frutose-6-fosfato por meio de duas reações sucessivas:



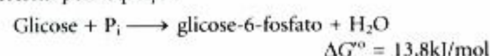
$$\text{Glicose-1-fosfato} \longrightarrow \text{glicose-6-fosfato}$$
$$\text{Glicose-6-fosfato} \longrightarrow \text{frutose-6-fosfato}$$

Usando os valores de $\Delta G'^{\circ}$ apresentados na Tabela 14-4, calcule a constante de equilíbrio, $K'_{eq}$, para o somatório das duas reações, a 25°C:



$$\text{Glicose-1-fosfato} \longrightarrow \text{frutose-6-fosfato}$$

**9. Estratégia para contornar uma reação desfavorável: acoplamento químico dependente de ATP.** A fosforilação da glicose a glicose-6-fosfato é a etapa inicial do catabolismo da glicose. A fosforilação direta da glicose por $P_i$ é descrita pela equação

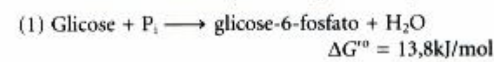


$$\text{Glicose} + P_i \longrightarrow \text{glicose-6-fosfato} + H_2O \qquad \Delta G'^{\circ} = 13{,}8\text{kJ/mol}$$

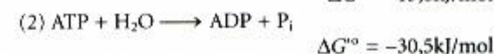
(a) Calcule a constante de equilíbrio para a reação acima. Em hepatócito de rato, as concentrações fisiológicas de glicose e $P_i$ são mantidas em aproximadamente 4,8mM. Qual é a concentração de equilíbrio da glicose-6-fosfato obtida por meio de fosforilação direta da glicose por $P_i$? Seria esta reação uma via metabólica razoável para o catabolismo da glicose? Explique.

(b) Ao menos em princípio, uma forma de aumentar a concentração de glicose-6-fosfato consiste em deslocar o equilíbrio da reação para a direita, por meio de aumento nas concentrações intracelulares de glicose e $P_i$. Supondo-se uma concentração de $P_i$ igual a 4,8mM, a que valor deve ser aumentada a concentração de glicose intracelular para obter-se uma concentração de equilíbrio da glicose-6-fosfato igual a 250μM (concentração fisiológica normal)? Sabendo-se que a solubilidade máxima da glicose é inferior a 1M, seria essa tentativa fisiologicamente razoável?

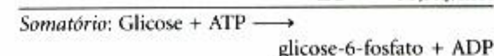
(c) A fosforilação da glicose na célula é acoplada à hidrólise do ATP, isto é, parte da energia livre de hidrólise do ATP é utilizada na fosforilação endergônica da glicose:



$$(1)\ \text{Glicose} + P_i \longrightarrow \text{glicose-6-fosfato} + H_2O \qquad \Delta G'^{\circ} = 13{,}8\text{kJ/mol}$$



$$(2)\ \text{ATP} + H_2O \longrightarrow \text{ADP} + P_i \qquad \Delta G'^{\circ} = -30{,}5\text{kJ/mol}$$



*Somatório*: $\text{Glicose} + \text{ATP} \longrightarrow \text{glicose-6-fosfato} + \text{ADP}$

Calcule a $K'_{eq}$ para a reação total. Para a fosforilação da glicose dependente de ATP, qual é a concentração de glicose necessária para obter-se uma concentração intracelular de glicose-6-fosfato igual a 250μM, supondo-se que as concentrações de ATP e ADP são iguais a 3,38 e 1,32mM, respectivamente? Esse processo de acoplamento representa, ao menos em princípio, uma via factível para a fosforilação da glicose nas condições em que ela ocorre na célula? Explique.

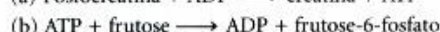
(d) Embora o acoplamento da hidrólise do ATP à fosforilação da glicose seja termodinamicamente viável, a forma como ele ocorre ainda não é conhecida. Desde que o acoplamento requer um intermediário comum, uma via concebível seria a utilização da hidrólise do ATP para aumentar a concentração intracelular de $P_i$, promovendo, assim, a fosforilação desfavorável da glicose por $P_i$. Seria essa uma via razoável? (Leve em consideração os produtos de solubilidade dos intermediários metabólicos.)

(e) A fosforilação da glicose acoplada ao ATP no hepatócito é catalisada pela glicoquinase. A enzima liga ATP e glicose, formando um complexo glicose-ATP-enzima, e o grupo fosforil é transferido diretamente do ATP para a glicose. Explique as vantagens dessa via.

**10. Cálculo de $\Delta G'^{\circ}$ para reações acopladas ao ATP.** A partir dos dados da Tabela 14-6, calcule o valor de $\Delta G'^{\circ}$ para as reações:



(a) $\text{Fosfocreatina} + \text{ADP} \longrightarrow \text{creatina} + \text{ATP}$

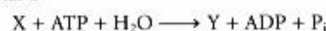


(b) $\text{ATP} + \text{frutose} \longrightarrow \text{ADP} + \text{frutose-6-fosfato}$

**11. Acoplamento da hidrólise do ATP a uma reação desfavorável.** Para avaliar as conseqüências do acoplamento da hidrólise do ATP a uma reação bioquímica termodinamicamente desfavorável, sob condições fisiológicas, considere a transformação hipotética $X \rightarrow Y$, para a qual $\Delta G'^{\circ} = 20\text{kJ/mol}$.

(a) Qual é o valor de [Y]/[X] no estado de equilíbrio?

(b) Considere que X e Y participam de uma seqüência de reações que inclui a hidrólise do ATP a ADP e $P_i$. A reação total é

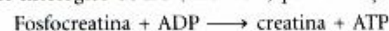


$$X + \text{ATP} + H_2O \longrightarrow Y + \text{ADP} + P_i$$

Calcule [Y]/[X] para a reação no estado de equilíbrio, assumindo que as concentrações de ATP, ADP e $P_i$ são todas iguais a 1M quando a reação se encontra no estado de equilíbrio.

(c) Sabe-se que em condições fisiológicas as concentrações de [ATP], [ADP] e [$P_i$] *não* são iguais a 1M. Assim, calcule [Y]/[X] para a reação acoplada quando as concentrações de [ATP], [ADP] e [$P_i$] forem iguais às encontradas em miócito de rato (Tabela 14-5).

**12. Cálculo de $\Delta G$ em concentrações fisiológicas.** Calcule o valor fisiológico de $\Delta G$ (não $\Delta G'^{\circ}$) para a reação



$$\text{Fosfocreatina} + \text{ADP} \longrightarrow \text{creatina} + \text{ATP}$$

a 25°C, na forma como ela ocorre no citosol dos neurônios, no qual as concentrações de fosfocreatina, creatina, ADP e ATP são 4,7mM, 1,0mM, 0,73mM e 2,6mM, respectivamente.

**13. Energia livre necessária para síntese de ATP sob condições fisiológicas.** No citosol de hepatócito de rato, pode-se observar a seguinte razão:

$$\frac{[\text{ATP}]}{[\text{ADP}][P_i]} = 5{,}33 \times 10^2 M^{-1}$$

Calcule a energia livre necessária para sintetizar ATP nessas condições.

**14. Utilização diária de ATP por indivíduos adultos.**

(a) Um total de 30,5kJ/mol de energia livre é necessário para a síntese de ATP a partir de ADP e $P_i$ quando reagentes e produtos estão presentes em concentrações iguais a 1M (condição-padrão). Como as concentrações fisiológicas dessas substâncias nas células não são iguais a 1M, a energia livre necessária para sintetizar ATP sob condições fisiológicas é diferente de $\Delta G'^{\circ}$. Calcule a energia livre necessária para a síntese do ATP em hepatócito humano, em que as concentrações fisiológicas de ATP, ADP e $P_i$ são 3,5mM, 1,50mM e 5,0mM, respectivamente.

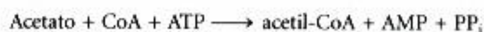
(b) Um adulto normal de 68kg (150lb) precisa ingerir alimentos que lhe forneçam 2.000kcal (8.360kJ) durante um período de 24 horas. Esses alimentos são metabolizados, e a energia livre é utilizada para sintetizar

ATP para a realização de trabalho químico e mecânico. Assumindo que a eficiência da conversão da energia dos alimentos em ATP é de 50%, calcule a massa de ATP necessária a um indivíduo adulto durante um período de 24 horas. Que porcentagem da massa corporal esse valor representa?

(c) Embora indivíduos adultos sintetizem diariamente grandes quantidades de ATP, a sua massa corporal, estrutura e composição não variam significativamente durante o mesmo período. Explique essa aparente contradição.

**15. Taxas de reciclagem dos fosfatos γ e β do ATP.** Se uma pequena quantidade de ATP marcado com fósforo radioativo na posição terminal [γ-$^{32}$P]ATP é adicionada a um extrato de levedura, aproximadamente metade da radioatividade do $^{32}$P é encontrada no $P_i$ após alguns poucos minutos, mas a concentração de ATP mantém-se inalterada. Explique. Se o mesmo experimento é realizado com o ATP marcado com $^{32}$P na posição central, [β-$^{32}$P]ATP, isso não ocorre, ao menos dentro de um curto período. Por quê?

**16. Quebra do ATP em AMP e PP$_i$ durante o metabolismo.** A síntese da forma ativada do acetato, a acetil-CoA, é um processo dependente de ATP:



$$\text{Acetato} + \text{CoA} + \text{ATP} \longrightarrow \text{acetil-CoA} + \text{AMP} + \text{PP}_i$$

(a) O valor de $\Delta G'^{\circ}$ para a hidrólise de acetil-CoA em acetato e CoA é −32,2kJ/mol e para a hidrólise do ATP em AMP, e PP$_i$ é −30,5kJ/mol. Calcule o valor de $\Delta G'^{\circ}$ para a síntese de acetil-CoA dependente de ATP.

(b) Quase todas as células contêm a enzima pirofosfatase inorgânica, que catalisa a hidrólise do PP$_i$ em P$_i$. Qual é o efeito dessa enzima sobre a síntese de acetil-CoA? Explique.

**17. Energia para o bombeamento de H$^+$.** As células parietais de revestimento do estômago contêm "bombas" de membrana que transportam íons hidrogênio do citosol dessas células (pH 7,0) para o estômago, contribuindo com a acidez do suco gástrico (pH 1,0). Calcule a energia livre necessária para transportar 1 mol de íon hidrogênio por meio dessas "bombas". (Sugestão: veja Capítulo 13.) Considere a temperatura como sendo 25°C.

**18. Potenciais de redução padrão.** O potencial de redução padrão, $E'^{\circ}$, de qualquer par redox é definido para a reação da meia-célula:



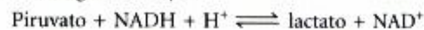
$$\text{Agente oxidante} + n \text{ elétrons} \longrightarrow \text{agente redutor}$$

Os valores de $E'^{\circ}$ para os pares redox conjugados NAD$^+$/NADH e piruvato/lactato são iguais a −0,32 e −0,19V, respectivamente.

(a) Qual desses pares conjugados apresenta a maior tendência em perder elétrons? Explique.

(b) Qual é o agente oxidante mais forte? Explique.

(c) Iniciando-se com reagentes e produtos em concentrações iguais a 1M e em pH 7,0, em qual sentido irá ocorrer a seguinte reação?

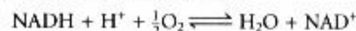


$$\text{Piruvato} + \text{NADH} + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{lactato} + \text{NAD}^+$$

(d) Qual é a variação de energia livre padrão ($\Delta G'^{\circ}$), a 25°C, para a conversão do piruvato em lactato?

(e) Qual é a constante de equilíbrio ($K'_{eq}$) desta reação?

**19. Extensão da energia na cadeia respiratória.** Pode-se representar a transferência de elétrons na cadeia respiratória mitocondrial como se segue:



$$\text{NADH} + \text{H}^+ + \tfrac{1}{2}\text{O}_2 \rightleftharpoons \text{H}_2\text{O} + \text{NAD}^+$$

(a) Calcule $\Delta E'^{\circ}$ para a reação líquida de transferência de elétrons pelas mitocôndrias.

(b) Calcule $\Delta G'^{\circ}$ para a mesma reação.

(c) Quantas moléculas de ATP podem, *teoricamente*, ser geradas por esta reação, considerando-se que a energia livre para síntese de ATP nas condições celulares padrão é 52kJ/mol?

**20. Dependência da força eletromotiva com relação às concentrações.** Calcule a força eletromotiva (em volts) registrada por um elétrodo mergulhado em uma solução contendo as seguintes misturas de NAD$^+$ e NADH, em pH 7,0, a 25°C, com referência a uma meia-célula de $E'^{\circ}$ = 0,00V.

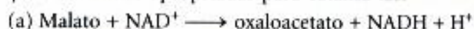
(a) 1,0mM NAD$^+$ e 10mM NADH

(b) 1,0mM NAD$^+$ e 1,0mM NADH

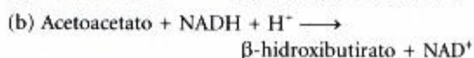
(c) 10mM NAD$^+$ e 1,0mM NADH

**21. Afinidade dos compostos por elétrons.** Faça uma relação das seguintes substâncias, em ordem crescente de tendência em receber elétrons: (a) α-cetoglutarato + $CO_2$ (liberando isocitrato); (b) oxaloacetato; (c) $O_2$; (d) NADP$^+$.

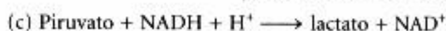
**22. Sentido das reações de oxidação-redução.** Das reações a seguir, quais se espera que possam ocorrer no sentido apresentado, sob condições-padrão, assumindo-se a presença das enzimas apropriadas para catalisá-las?



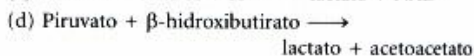
(a) Malato + NAD$^+$ ⟶ oxaloacetato + NADH + H$^+$



(b) Acetoacetato + NADH + H$^+$ ⟶ β-hidroxibutirato + NAD$^+$



(c) Piruvato + NADH + H$^+$ ⟶ lactato + NAD$^+$



(d) Piruvato + β-hidroxibutirato ⟶ lactato + acetoacetato



(e) Malato + piruvato ⟶ oxaloacetato + lactato



(f) Acetaldeído + succinato ⟶ etanol + fumarato